

Aus dem Franz-Volhard-Centrum für Klinische Forschung  
der Medizinischen Fakultät der Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

**Charakterisierung der  
lokalen Kontrolle des Stoffwechsels  
und der Durchblutung  
im subkutanen Fettgewebe**

Zur Erlangung des akademischen Grades  
Doctor rerum medicarum (Dr. rer. medic.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
der Charité – Universitätsmedizin Berlin

von  
Frauke Adams  
aus Potsdam

Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. Martin Paul

Gutachter:      1. Prof. Dr. med. Jens Jordan  
                         2. Prof. Dr. med. Alfred Wirth  
                         3. Prof. Dr. med. Arya M. Sharma

Eingereicht am:              09.08.2005

Datum der Promotion:      24.04.2006

---

## Abstract

Ein wichtiger Regulator der Lipolyse im Fettgewebe ist das sympathische Nervensystem. Über die Bedeutung präsynaptischer Faktoren (z.B. der lokalen Noradrenalinfreisetzung) des Fettgewebes ist jedoch wenig bekannt. Zudem sezerniert das Fettgewebe Signalmoleküle, die die lokale Lipolyse beeinflussen können, z.B. Angiotensin II (Ang II). Die Lipolyse hängt zudem von der Durchblutung und der Zellularität des Gewebes ab.

Es wurde geprüft, ob (I) die lokale neuronale Noradrenalinfreisetzung die Durchblutung und den Stoffwechsel im subkutanen abdominalen Fettgewebe (SAF) beeinflusst und geschlechtsspezifische Unterschiede vorliegen, (II) Ang II die Durchblutung und den Stoffwechsel des SAF inhibiert, (III) Durchblutung und Stoffwechsel des SAF bei Schlanken von der Hautfaltendicke abhängen.

42 Normalgewichtige (18 Männer, 24 Frauen) wurden mit der Mikrodialysetechnik untersucht. Das adrenerge System des SAF wurde mit Isoproterenol (Iso) und Tyramin (Tyr) charakterisiert. Mittels Ethanol-Dilutionstechnik, [Glycerol], [Lactat] und [Glucose] im Dialysat wurden Änderungen in Durchblutung, Lipolyse, Glycolyse und Glucoseversorgung abgeschätzt. Die Hautfaltendicke wurde mittels Caliper-Technik bestimmt.

Niedrigere Tyr-Dosen erhöhten die Lipolyse im SAF, die Durchblutung blieb konstant. Der Lipolyseanstieg war bei den Frauen größer als bei den Männern, war aber auch unter Iso bei den Frauen höher. Ang II verminderte zumindest im SAF der Frauen leicht die Durchblutung und indirekt die Lipolyse. Die Hautfaltendicke korrelierte geschlechtsunabhängig negativ-linear mit der Durchblutung und der Lipolyse.

Die lokale neuronale Noradrenalinfreisetzung spielt eine wichtige Rolle in der Regulation der Lipolyse des SAF. Die geschlechtsspezifischen Unterschiede sind auf postsynaptische Faktoren zurückzuführen. Ang II beeinflusst die Durchblutung und die Lipolyse des SAF nur gering. Durchblutung und Stoffwechsel des SAF sind schon bei Normalgewichtigen mit zunehmender

Hautfaltendicke vermindert.

Schlagwörter: Sympathisches Nervensystem, Lipolyse, adrenerge Rezeptoren, Hautfaltendicke

## Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>EINLEITUNG.....</b>	<b>1</b>
1.1	FETTSTOFFWECHSEL UND SYMPATHISCHES NERVENSYSTEM .....	3
1.2	FETTSTOFFWECHSEL UND RENIN-ANGIOTENSIN-SYSTEM.....	6
1.3	FETTSTOFFWECHSEL UND HAUTFALTENDICKE .....	9
1.4	HYPOTHESEN.....	11
<b>2</b>	<b>METHODIK .....</b>	<b>14</b>
2.1	PROBANDEN .....	14
2.2	BESTIMMUNG DER HAUTFALTENDICKE .....	14
2.3	MIKRODIALYSETECHNIK.....	15
2.3.1	<i>Aufbau des Mikrodialyse-Systems .....</i>	<i>15</i>
2.3.2	<i>Implantation der Sonden .....</i>	<i>17</i>
2.3.3	<i>Experimentelle Protokolle.....</i>	<i>19</i>
2.3.4	<i>Marker für Veränderungen in Durchblutung und Stoffwechsel .....</i>	<i>23</i>
2.3.4.1	Durchblutung .....	23
2.3.4.2	Fettstoffwechsel .....	24
2.3.4.3	Kohlenhydratstoffwechsel .....	24
2.3.5	<i>Recovery der Markermetaboliten .....</i>	<i>25</i>
2.3.6	<i>Probenlagerung.....</i>	<i>26</i>
2.4	ISOLIERUNG UND INKUBATION DER ADIPOCYTEN .....	26
2.4.1	<i>Isolation der Adipocyten .....</i>	<i>26</i>
2.4.2	<i>Inkubation der Adipocyten.....</i>	<i>27</i>
2.5	PROBENAUFBEREITUNG.....	28
2.5.1	<i>Mikrodialysate.....</i>	<i>28</i>
2.5.2	<i>Inkubationsmedien .....</i>	<i>28</i>
2.6	ASSAYS .....	28
2.6.1	<i>Bestimmung der Ethanol-Konzentration .....</i>	<i>28</i>
2.7	BESTIMMUNG DER METABOLITEN-KONZENTRATION.....	31
2.8	STATISTISCHE ANALYSE .....	33
<b>3</b>	<b>ERGEBNISSE .....</b>	<b>34</b>
3.1	VALIDIERUNG DER MIKRODIALYSETECHNIK IM SUBKUTANEN FETTGeweBE .....	34
3.1.1	<i>Stabilität des Mikrodialyse-Systems.....</i>	<i>34</i>
3.1.2	<i>Ethanol-Dilutions-Technik .....</i>	<i>36</i>
3.2	ADRENERGE REGULATION .....	37
3.2.1	<i>Wirkungen von Tyramin auf die Lipolyse isolierter Adipocyten.....</i>	<i>37</i>
3.2.2	<i>Wirkungen von Tyramin im Fettgewebe.....</i>	<i>38</i>

---

3.2.3	<i>Wirkungen von Isoproterenol im Fettgewebe.....</i>	40
3.2.4	<i>Korrelation der Glycerol-Konzentrationen unter Tyramin- und Isoproterenol .</i>	42
3.2.5	<i>Wirkungen von Dopamin im Fettgewebe .....</i>	43
3.2.6	<i>Wirkung von Tyramin unter <math>\beta</math>-adrenerger Blockade .....</i>	44
3.2.7	<i>Wirkungen von Isoproterenol unter <math>\beta</math>-adrenerger Blockade .....</i>	46
3.2.8	<i>Wirkungen von Tyramin im Skelettmuskel .....</i>	47
3.2.9	<i>Wirkungen von Isoproterenol im Skelettmuskel .....</i>	49
3.3	HUMORALE KONTROLLE .....	51
3.3.1	<i>Wirkungen von Angiotensin II im Fettgewebe.....</i>	51
3.3.2	<i>Wirkungen von Angiotensin II im Skelettmuskel .....</i>	52
3.4	EINFLUß DER HAUTFALTENDICKE AUF DURCHBLUTUNG UND STOFFWECHSEL DES SUBKUTANEN ABDOMINALEN FETTGEWEBES .....	55
3.4.1	<i>BMI und Hautfaltendicken der untersuchten Probanden .....</i>	55
3.4.2	<i>Einfluß der Hautfaltendicke auf Durchblutung und Stoffwechsel unter Basalbedingungen.....</i>	55
3.4.3	<i>Einfluß der Hautfaltendicke auf Durchblutung und Stoffwechsel unter stimulierten Bedingungen.....</i>	58
4	<b>DISKUSSION .....</b>	<b>59</b>
4.1	NEURO-HORMONALE REGULATION .....	59
4.2	HUMORALE REGULATION .....	65
4.3	EINFLUß DER HAUTFALTENDICKE .....	68
4.4	DISKUSSION DER METHODEN.....	71
5	<b>SCHLUßFOLGERUNGEN UND AUSBLICK .....</b>	<b>74</b>
6	<b>LITERATURVERZEICHNIS.....</b>	<b>77</b>

**Abkürzungsverzeichnis**

ACE	engl. angiotensin converting enzyme
ADH	Alkoholdehydrogenase
AGT	Angiotensinogen
ANOVA	engl. analysis of variance
AT <sub>1</sub> -Rezeptor	Angiotensin II – Rezeptor Typ 1
AT <sub>2</sub> -Rezeptor	Angiotensin II – Rezeptor Typ 2
ATP	Adenosintriphosphat
BMI	engl. body mass index
BSA	engl. bovine serum albumine
cAMP	3', 5'-cyclo Adenosinmonophosphat
cGMP	3', 5'-cyclo Guanosinmonophosphat
DCHBS	3,5-Dichloro-2-Hydroxybenzenschwefelsäure
G <sub>i</sub> , G <sub>s</sub>	inhibierendes bzw. stimulierendes G-Protein
HBSS	engl. Hank's Balanced Salt Solution
KCl	Kaliumchlorid
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	Kaliumhydrogenphosphat
MgSO <sub>4</sub>	Magnesiumsulfat
mRNA	engl. messenger ribonucleic acid
NaCl	Natriumchlorid
NAD <sup>+</sup>	Nicotinamidadenindinucleotid (oxidierte Form)
NADH + H <sup>+</sup>	Nicotinamidadenindinucleotid (reduzierte Form)

---

RAS	Renin-Angiotensin-System
rpm	engl. rotations per minute
SEM	engl. standard error of the mean



## 1 Einleitung

Die Zahl der Übergewichtigen nimmt trotz eines gewachsenen Ernährungsbewußtseins weiter zu. So ist in Deutschland die Hälfte der Bevölkerung übergewichtig ( $\text{BMI} \geq 25 \text{ kg/m}^2$ ), jeder sechste ist adipös ( $\text{BMI} \geq 30 \text{ kg/m}^2$ ), knapp 1% sogar morbid adipös ( $\text{BMI} \geq 40 \text{ kg/m}^2$ ) (1). Liegt der Anteil des Fettgewebes bei Schlanken bei ca. 20% der Körpermasse, so kann dieser bei einem morbid Adipösen bis zu 50% ausmachen (2). Eine Zunahme der Fettgewebssmasse wird aufgrund der metabolischen und endokrinen Eigenschaften des Fettgewebes als entscheidender Promotor für die Ausbildung der adipositas-assoziierten Folgeerkrankungen, wie z.B. Hypertonie und Diabetes mellitus, angesehen.

Das Fettgewebe dient in erster Linie der Speicherung von Energie in Form von Triacylglyceriden. Änderungen in der Fettmasse bedingen Änderungen im Fettaufbau (Lipogenese) bzw. Fettabbau (Lipolyse). Das sympathische Nervensystem mit den Transmittern Noradrenalin und Adrenalin ist der wichtigste Stimulator der Lipolyse, der bedeutendste Inhibitor ist das Insulin (2, Abb.1). Daneben können zahlreiche lokale, vom Fettgewebe selbst synthetisierte und freigesetzte Signalmoleküle den Fettstoffwechsel beeinflussen (3). Zu diesen sezernierten Molekülen gehört das Angiotensin II (4). Im Fettgewebe von Nagern fördert Angiotensin II die neuronale Freisetzung von Noradrenalin bzw. hemmt seine Wiederaufnahme (5). Der lokale Fettgewebstoffwechsel ist weiterhin von der Gewebedurchblutung abhängig (6). Die Durchblutung im Fettgewebe wird wiederum durch die Zellularität des Fettgewebes bestimmt (7).

Neben dem Fettgewebe kann auch der Skelettmuskel Triacylglyceride zur Deckung seines Energiebedarfs, speziell bei Belastung, speichern (8). Andererseits wird eine vermehrte intramuskuläre Speicherung von Triacylglyceriden bei Adipösen als begünstigender Faktor für die Entwicklung der Insulinresistenz diskutiert (9).

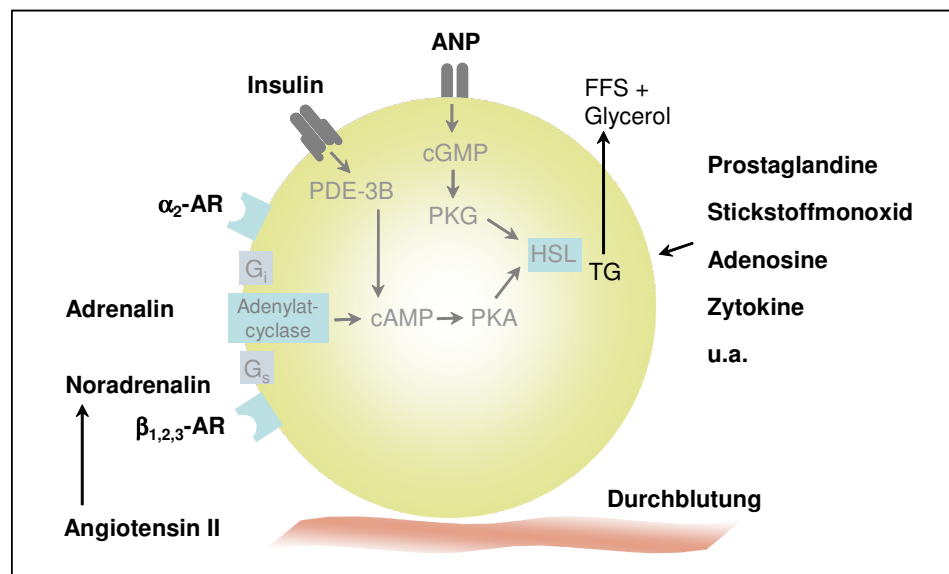


Abb. 1: Regulation der Lipolyse im humanen Fettgewebe.  $\alpha_2$ -AR:  $\alpha_2$ -Adrenozeptor,  $\beta_{1,2,3}$ :  $\beta_{1,2,3}$ -Adrenozeptoren,  $G_i$ : inhibierendes G-Protein,  $G_s$ : stimulierendes G-Protein, cAMP: 3', 5'-cyclo Adenosinmonophosphat, cGMP: 3', 5'-cyclo Guanosinmonophosphat, PDE-3B: Phosphodiesterase 3B, PKA: Proteinkinase A, PKG: Proteinkinase G, FFS: freie Fettsäuren, HSL: Hormonsensitive Lipase, TG: Triacylglyceride. Modifiziert nach Stich und Berlan 2004.

Für viele der adipositas-assoziierten Erkrankungen gibt es heute geeignete Tiermodelle (10). Die aus diesen Modellen gewonnenen Erkenntnisse sind aber nicht immer unmittelbar auf den Menschen übertragbar. So ist die hormonelle und neuronale Stoffwechselregulation im Fettgewebe stark spezies-abhängig. Im Fettgewebe von Nagern hat z.B. Noradrenalin eine stärkere Bedeutung für die Regulation der Lipolyse als Adrenalin, während beim Menschen beide Katecholamine equipotent sind (11). Auch zeigt die Regulation der Genexpression verschiedener Komponenten des Renin-Angiotensin-Systems im Fettgewebe deutliche Unterschiede zwischen Mensch und Nagern (12).

Ziel der Arbeit war, die lokale Kontrolle des Stoffwechsels und der Durchblutung durch das sympathische Nervensystem und das von Adipocyten synthetisierte Angiotensin II im humanen Fettgewebe näher zu charakterisieren. Zudem sollte der Einfluß der Zellularität des Fettgewebes geprüft werden.

## 1.1 Fettstoffwechsel und sympathisches Nervensystem

Das sympathische Nervensystem reguliert die Lipolyse im Fettgewebe über die beiden Transmitter Noradrenalin und Adrenalin. Noradrenalin ist dabei als klassischer Neurotransmitter, Adrenalin eher als Neurohormon anzusehen (11).

Noradrenalin und Adrenalin werden aus der der Zirkulation entstammenden Aminosäure Tyrosin über die Verbindungen Dihydroxyphenylalanin (DOPA) und Dihydroxyphenylamin (Dopamin) synthetisiert (Abb. 2; 13). Dopamin fungiert aber auch selbst als Neurotransmitter und wirkt über Adrenozeptoren oder spezifische Dopamin-Rezeptoren. Noradrenalin wird in den postganglionären sympathischen Neuronen synthetisiert und in deren chromaffinen Granula gespeichert. Adrenalin wird in den chromaffinen Zellen des Nebennierenmarks synthetisiert und gespeichert. Beide Transmitter werden nach entsprechenden Reizen durch Exocytose freigesetzt: Noradrenalin direkt in den synaptischen Spalt, Adrenalin zunächst direkt in die Zirkulation.

Noradrenalin bindet postsynaptisch an adrenerge Rezeptoren (Adrenozeptoren), die sowohl an den Adipocyten als auch an den Blutgefäßen des Fettgewebes lokalisiert sind (14). Im Fettgewebe existieren  $\alpha_1$ - und  $\alpha_2$ - sowie  $\beta_1$ -,  $\beta_2$ - und  $\beta_3$ -Adrenozeptor-Subtypen (15,16). Im Vergleich zum viszeralen Fettgewebe ist die Expression des  $\beta_3$ -Adrenozeptors im subkutanen deutlich geringer (17,18).

Über die  $\beta$ -Adrenozeptoren wird die Lipolyse stimuliert und die Durchblutung erhöht, über den  $\alpha_2$ -Adrenozeptor wird die Lipolyse gehemmt und die Durchblutung erniedrigt (14). Die  $\beta$ -Adrenozeptoren wirken über Adenylatcyclase stimulierende, der  $\alpha_2$ -Adrenozeptor über Adenylatcyclase inhibierende G-Proteine. Die Adenylatcyclase generiert cAMP, das die Proteinkinase A aktiviert, die wiederum die hormonsensitive Lipase stimuliert.

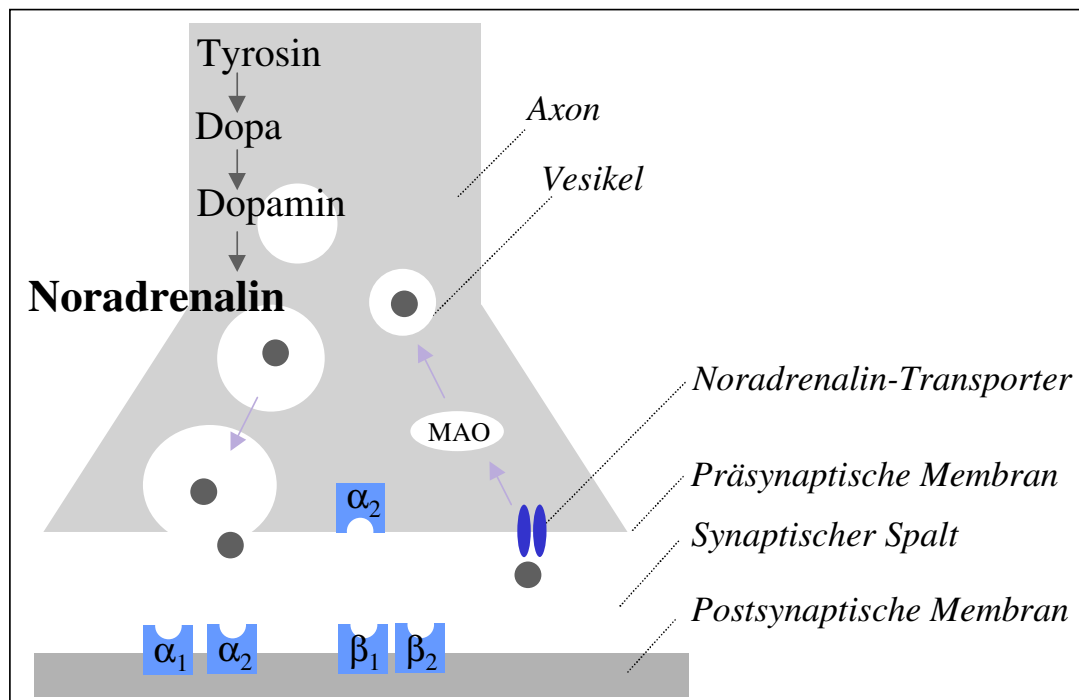


Abb. 2: : Neuronale Synthese, Freisetzung und Wiederaufnahme von Noradrenalin. DOPA: Dihydroxyphenylalanin, Dopamin: Dihydroxyphenylamin,  $\alpha_{1,2}$ :  $\alpha_{1,2}$ -Adrenozeptor,  $\beta_{1,2}$ :  $\beta_{1,2}$ -Adrenozeptor, MAO: Monoaminoxidase (Weitere Erklärungen siehe Text).

Die aktivierte Lipase hydrolysiert Triacylglycerol in Glycerol und freie Fettsäuren. Der  $\alpha_1$ -Adrenozeptor ist nicht mit dem Adenylatcyclasesystem verbunden. Über den  $\alpha_1$ -Adrenozeptor wird die Glucose-Aufnahme in den Adipocyten sowie die Bildung von Lactat stimuliert (19,14).

Die Freisetzung von Noradrenalin wird u.a. über die Bindung von Noradrenalin an präsynaptische  $\alpha_2$ -Adrenozeptoren moduliert. Hauptsächlich wird die Wirkung von Noradrenalin durch Wiederaufnahme in das präsynaptische Neuron durch den Noradrenalin-Transporter beendet (Abb. 2; 13). Etwa 70 bis 90 % des Noradrenalins werden durch diesen Mechanismus aus dem synaptischen Spalt eliminiert, wobei der größte Teil durch die Monoaminoxidase abgebaut wird. Ein kleinerer Teil wird in die präsynaptischen Vesikel aufgenommen und kann erneut freigesetzt werden.

Somit wird die adrenerge Antwort im Fettgewebe einerseits durch Faktoren

der präsynaptischen Ebene (Freisetzung und Wiederaufnahme von Noradrenalin), andererseits durch Faktoren der postsynaptischen Ebene (Anzahl bzw. Verteilung und Aktivität der verschiedenen Adrenozeptor-Subtypen, Unterschiede auf der Postrezeptor-Ebene) bestimmt. So ist z.B. die Verteilung der Adrenozeptor-Subtypen spezies-, geschlechts- und altersspezifisch und zudem abhängig von der Lokalisation und Masse des Fettgewebes (20,21,14).

Die physiologische Bedeutung des Noradrenalin-Transporters für die Regulation des Fettgewebsstoffwechsels ist bisher unklar (22). Im zentralen Nervensystem dient der Noradrenalin-Transporter als Bindungsort für psychoaktive endogene Substanzen sowie auch Antidepressiva (23). Er besteht aus 617 Aminosäuren mit zwölf transmembranären Domänen und funktioniert als Kanal für Noradrenalin (24). *In-vivo* Studien weisen auf eine hormonelle Modulation durch Schilddrüsen- und Wachstumshormone sowie Insulin hin (25,26). Im Tiermodell wurde die Expression und Funktion des Noradrenalin-Transporters in verschiedenen Gebieten des zentralen Nervensystems durch Testosteron, Östrogen und Progesteron beeinflusst (27, 28). Geschlechtshormone könnten daher auch beim Menschen zu Unterschieden in der Noradrenalin-Transporter-Aktivität führen. So deutet die Häufigkeit der Orthostatischen Intoleranz, einer Erkrankung des sympathischen Nervensystems, auf geschlechtsspezifische Unterschiede in der neuronalen Noradrenalin-Wiederaufnahme hin. Diese Erkrankung, die mit einer erniedrigten Noradrenalin-Clearance einhergeht, tritt hauptsächlich bei jungen Frauen im gebärfähigen Alter auf, so daß die Aktivität des Noradrenalin-Transporters bei Frauen möglicherweise niedriger als bei Männern ist (29, 30).

## 1.2 Fettstoffwechsel und Renin-Angiotensin-System

Das weiße Fettgewebe exprimiert alle Komponenten des Renin-Angiotensin-Systems. Angiotensinogen wird durch Renin in Angiotensin I umgewandelt, welches durch ACE in die aktive Form, das Angiotensin II, umgebaut wird (31). Das renale Renin-Angiotensin-System ist an der Regulation des Blutdrucks sowie der Wasser- und Elektrolyt-Homöostase beteiligt. Die Existenz extra-renaler, lokaler Renin-Angiotensin-Systeme im Fettgewebe aber auch in der Skelettmuskulatur könnte einerseits eine lokale, andererseits aber auch eine systemische Bedeutung für die Regulation wichtiger Stoffwechselwege haben (4,32).

Angiotensin II bindet an zwei strukturell und pharmakologisch unterschiedliche Rezeptor-Subtypen, den AT<sub>1</sub>- und AT<sub>2</sub>-Rezeptor (31). Der AT<sub>1</sub>-Rezeptor gehört ebenso wie die Adrenozeptoren zu den G-Protein-gekoppelten Transmembranrezeptoren. Die Bindung von Angiotensin II an den AT<sub>1</sub>-Rezeptor führt zur Aktivierung eines G<sub>i</sub>-Proteins, wodurch in glatten Muskelzellen, Nieren und Hepatozyten die Adenylatcyclase inaktiviert wird. Die meisten der bekannten Wirkungen von Angiotensin II werden über den AT<sub>1</sub>-Rezeptor vermittelt. Der AT<sub>2</sub>-Rezeptor beeinflusst wahrscheinlich Zelldifferenzierung und -wachstum (31, 33).

Das Fettgewebe ist aufgrund der Bildung beider AT-Rezeptor-Subtypen auch selbst das Ziel des lokal gebildeten Angiotensin II (34). Über einen längeren Zeitraum systemisch infundiertes Angiotensin II vermindert bei Ratten blutdruck-unabhängig das Körpergewicht und die Fettgewebsmasse, wobei die Abnahme des Körpergewichtes durch einen AT<sub>1</sub>-Antagonisten verhindert wurde (35,36,37). AT<sub>1</sub>-Rezeptoren sind jedoch nicht nur auf der Adipocytenmembran lokalisiert, sondern auch an den präsynaptischen Nervenendigungen (38,39). Im braunen Fettgewebe induziert Angiotensin II die Freisetzung von Noradrenalin und hemmt seine Wiederaufnahme in die freisetzenden Neurone (39). Somit scheint eine funktionelle Wechselwirkung zwischen Angiotensin II und dem Noradrenalin-Transporter zu bestehen.

Tatsächlich erhöht die *in-vivo* Applikation von Angiotensin II innerhalb von 7 bis 12 Tagen die lipolytische Aktivität über die Freisetzung von Noradrenalin im Fettgewebe von Nagern (40; Abb.3). Die akute Applikation von Angiotensin II hat dagegen zumindest im Tiermodell weder *in-vitro* noch *in-vivo* einen Einfluß auf die basale oder adrenozeptor-stimulierte Lipolyse (41, 42,43).

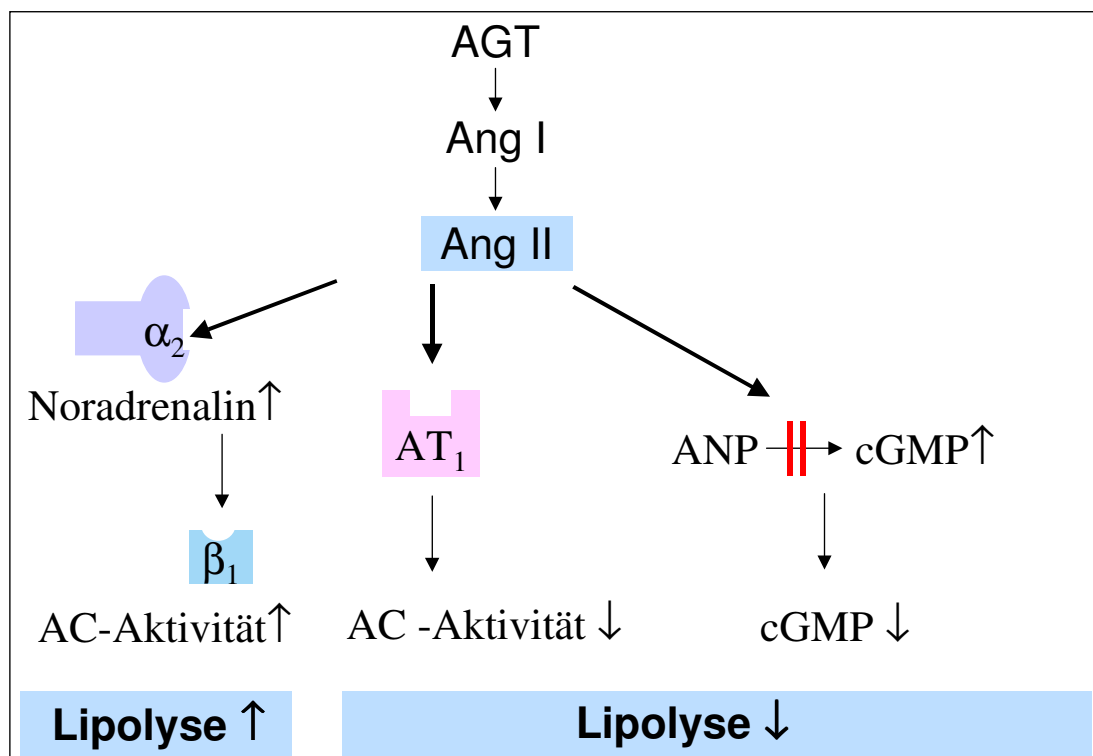


Abb. 3: Mögliche Signalkaskaden, über die Angiotensin II die Lipolyse im humanen Fettgewebe beeinflussen könnte. AGT: Angiotensinogen, Ang I und II: Angiotensin I und II,  $\alpha_2$ : präsynaptischer  $\alpha_2$ -Adrenozeptor,  $\beta_1$ : postsynaptischer  $\beta_1$ -Adrenozeptor,  $AT_1$ : Angiotensin II -Rezeptor Typ 1, ANP: Atriales natriuretisches Peptid, cGMP: 3', 5'-cyclo Guanosinmonophosphat, AC: Adenylatcyclase (Weitere Erläuterungen siehe Text).

Im Gegensatz zu den genannten Befunden induziert Angiotensin in humanen Adipocyten und Präadipocyten von Nagern (3T3-L1 Zell-Linie) die Lipogenese *in-vitro* (44). Die Aktivierung geht mit einer gesteigerten Aktivität und Expression lipogener Schlüsselenzyme (Glycerophosphat-Dehydrogenase und Fettsäure-Synthase) einher. In Einklang mit dieser Studie führt die Einnahme eines ACE-Hemmers sowohl beim Menschen als auch im Tiermodell zu einem Gewichtsverlust (45,46). Möglicherweise hat Angiotensin II auf die Lipolyse im humanen Fettgewebe einen inhibitorischen Effekt, beispielsweise über die Hemmung der Adenylatcyclase (31, Abb.3). Neuere Studien zeigen, daß ANP die Lipolyse über den cGMP-Syntheseweg stimuliert (47). Angiotensin II inhibiert in einigen Zelltypen die ANP-stimulierte cGMP-Synthese, so daß Angiotensin II auf diesem Weg indirekt die Lipolyse im Fettgewebe vermindern könnte (47).

Im Tiermodell wird adipocytär gebildetes AGT in die systemische Zirkulation sezerniert (12). Beim Menschen ist die Expression der Gene des Renin-Angiotensin-Systems im Fettgewebe adipöser Hypertoniker gesteigert, wodurch vermutlich vermehrt Angiotensin II im Fettgewebe gebildet und in die Zirkulation freigesetzt wird (12). Interessanterweise verbessert der AT<sub>1</sub>-Antagonist Valsartan die Insulinresistenz und Glucoseaufnahme im Skelettmuskel diabetischer Mäuse über eine Stimulation der Insulinkaskade und Erhöhung der GLUT4-Rezeptoren (48). Die Blockade des RAS mittels ACE-Hemmer oder Angiotensin II-Rezeptor-Antagonisten mindert das Risiko für die Entwicklung eines Typ 2-Diabetes (49). Dies ist möglicherweise auf eine verbesserte Mikrozirkulation im Skelettmuskel (und damit verbesserte Glucoseaufnahme) sowie auf eine verminderte intramuskuläre Speicherung von Lipiden zurückzuführen.



### 1.3 Fettstoffwechsel und Hautfaltendicke

Das Fettgewebe ist stark vaskularisiert, das Verhältnis aus Blut- und Zytoplasmavolumen ist im Fettgewebe beispielsweise sogar höher als in der quergestreiften Muskulatur (50). Die Mikrozirkulation des Fettgewebes nimmt innerhalb des vaskulären Systems eine Sonderstellung ein, da dieses Gewebe zeitlebens Wachstumskapazitäten besitzt.

Morphologisch läßt sich das Fettgewebswachstum dabei nach der Adipocytenzahl und Adipocytengröße in eine hyperplastische und in eine hypertrophe Form einteilen (51). Ein hyperplastischer Fettgewebsanstieg geht mit einer vermehrten Anzahl an Adipocyten einher, die Größe der Zellen bleibt gleich. Diese Form der Fettvermehrung entwickelt sich meist schon in der Kindheit. Bei nicht-adipösen Erwachsenen ist dagegen eine Zunahme des subkutanen abdominalen Fettgewebes mit einer Hypertrophie verbunden (52). Eine Hypertrophie ist durch eine Adipocytenvergrößerung gekennzeichnet ( $>130\text{ }\mu\text{m}$ ), die Zahl der Adipocyten bleibt jedoch unverändert (51). Eine schwere Adipositas ist das Ergebnis sowohl hypertrophen als auch hyperplastischen Fettgewebswachstums (52).

Am Tiermodell konnte gezeigt werden, daß sich die Gewebedurchblutung in Herz, Lunge, Niere und anderen Organen dem ansteigenden Organgewicht anpaßt (53). Die Durchblutung unterschied sich in diesen Organen zwischen adipösen und normalgewichtigen Tieren nicht. Interessanterweise war jedoch die Durchblutung im Fettgewebe (je Gramm Gewebe) bei den adipösen Tieren im Vergleich zu den normalgewichtigen Kontrollen signifikant niedriger. In einem anderen Tiermodell konnte direkt nachgewiesen werden, daß der vaskuläre Widerstand mit zunehmender Adipocytengröße ansteigt (7). Auch die Durchblutung im Fettgewebe von Adipösen ist im Vergleich zu schlanken Kontrollgruppen deutlich geringer (54,55,56,57). Die Fähigkeit des Fettgewebes, die Vaskularität an eine veränderte Fettmasse anzupassen, scheint zumindest zum Teil begrenzt zu sein.

Eine angemessene Durchblutung eines Gewebes ist für die Funktion des entsprechenden Organs essentiell. Geht eine Hypertrophie der Zellen nicht mit einer adaptierenden Kapillarisierung des entsprechenden Gewebes einher, kann dies zu einer Fehlfunktion des Organs führen. Ein Beispiel hierfür ist die kardiale Hypertrophie mit arterieller Hypertonie (58). Dabei ist die ansteigende Myozytenmasse nur unzureichend von einem kapillaren Wachstum begleitet, woraus eine kardiale Dysfunktion folgen kann.

Ein schwacher bis moderater Anstieg des Körperfettgehaltes ist beim Menschen mit einer Hypertrophie des Fettgewebes verbunden (52). Im Tierexperiment verhält sich die Adipocytengröße umgekehrt proportional zum Ausmaß der Durchblutung im Fettgewebe (7). Dies ist möglicherweise darauf zurückzuführen, daß die Größe der Adipocyten positiv mit der Zahl der  $\alpha_2$ -Adrenozeptoren korreliert (14). Daher könnte sich die relative Durchblutung bereits im Fettgewebe von Normalgewichtigen unabhängig vom BMI mit zunehmender subkutaner Fettschicht vermindern und als Folge der Lipidstoffwechsel negativ beeinflußt werden.

Der Body Mass Index, BMI (Körpermasse in kg / [Körperhöhe in m]<sup>2</sup>), ist ein international weitverbreitetes Maß für die Klassifikation einer Adipositas (51). Der BMI berücksichtigt jedoch die Fettverteilung nur ungenügend. Bei der Hautfaltendickenmessung kann die Stärke des subkutanen Fettgewebes mit Hilfe eines Calipers bestimmt und so die Dicke sowie das Verteilungsmuster der subkutanen Fettschicht erfaßt werden (59).

## 1.4 Hypothesen

Die Lipolyse im Fettgewebe wird durch unterschiedliche Faktoren beeinflusst:

Wichtigster Stimulator der Lipolyse im Fettgewebe des Menschen ist das sympathische Nervensystem. Im Gegensatz zur postsynaptischen Ebene ist jedoch über den Einfluß präsynaptischer Faktoren, insbesondere der lokalen Noradrenalinfreisetzung, auf die lokale Lipolyse im Fettgewebe wenig bekannt. Studien am Tiermodell sowie zur Orthostatischen Intoleranz lassen vermuten, daß die Noradrenalinfreisetzung im Fettgewebe geschlechtsabhängig reguliert wird.

Von besonderer Bedeutung war die Entdeckung, daß das Fettgewebe nicht nur eine Speicherfunktion besitzt, sondern in der Lage ist, Signalmoleküle, wie das Angiotensin II, zu synthetisieren und freizusetzen. Tierexperimentelle Studien weisen darauf hin, daß Angiotensin II auch auf den lokalen Fettstoffgewebswechsel des Menschen wirken könnte. Es wäre zudem denkbar, daß Angiotensin II im Fettgewebe geschlechtsabhängige Effekte auf die Lipolyse zeigt, da Sexualhormone das Renin-Angiotensin-System beeinflussen (60).

Die lokale Durchblutung ist ein wichtiger Parameter in der Regulation der Lipolyse im Fettgewebe und muß demzufolge bei der Untersuchung vasoaktiver Substanzen, wie Noradrenalin und Angiotensin II, berücksichtigt werden. Die Durchblutung hängt wiederum in hohem Maße von der Zellularität des Gewebes ab.

Mit dieser Arbeit sollten folgende Hypothesen geprüft werden:

- Der Noradrenalin-Transporter ist in die Regulation der Durchblutung und des Stoffwechsels im abdominal-subkutanen Fettgewebe involviert, wobei die Aktivität des Noradrenalin-Transporters im peripheren Fettgewebe der Frauen niedriger als bei Männern ist.

- Lokal appliziertes Angiotensin II vermindert im abdominal-subkutanen Fettgewebe die Durchblutung und hemmt damit die Lipolyse. In der Wirkung gibt es geschlechtsspezifische Unterschiede.
- Die Durchblutung im abdominal-subkutanen Fettgewebe vermindert sich bereits bei Normalgewichtigen mit zunehmender Hautfaltendicke. Das führt zu einer verminderten Substratversorgung bzw. Produkt-Clearance wodurch der Glucose- und Fettstoffwechsel negativ beeinflusst werden.

Zur Überprüfung von Hypothese 1 und 2 am Fettgewebe (primär Energiespeichernd) werden vergleichende Untersuchungen am Skelettmuskel (primär Energie verbrauchend) als Referenzgewebe durchgeführt. Beide Gewebe spielen eine Schlüsselrolle bei der adipositas-assoziierten Entwicklung einer Insulinresistenz.

Als Untersuchungsmethode kommt die Mikrodialyse-Technik zur Anwendung, da sie die simultane *in-vivo* Untersuchung verschiedener Regulationsebenen, einschließlich der Hämodynamik, an einfach zugänglichen Organen wie Fettgewebe und Muskel erlaubt (61,62). Durch Messung geeigneter Marker-Metabolite lassen sich Veränderungen im Organstoffwechsel bestimmen, Änderungen in der Durchblutung werden über die Ethanol-Dilutions-Technik abgeschätzt.

Die Charakterisierung der Funktion postganglionärer Neurone im Fettgewebe erfolgt mittels Tyramin, einem indirekten Sympathomimetikum, das die Noradrenalinfreisetzung aus den adrenergen Nervenendigungen stimuliert (13,63). In Fettgewebe und Skelettmuskulatur der Ratte wurde die lokale Applikation von Tyramin mittels Mikrodialysesonde bereits erfolgreich eingesetzt, sie führte zu einem ca. 10-fachen Anstieg der interstitiellen Noradrenalin-Konzentration in den Geweben (64). In der vorliegenden Arbeit soll dieser Ansatz erstmals klinisch angewendet werden. Aufgrund des Neuigkeitswertes dieser Prüfung gilt es, zusätzlich folgende Hypothesen zu testen:

- Tyramin zeigt keine direkten postsynaptischen Effekte an isolierten humanen Adipocyten.
- Die tyramin-induzierte Glycerol-Freisetzung im Gewebe läßt sich durch  $\beta$ -adrenerge Blockade vermindern.

Die Wirkung des Tyramins wird mit den bekannten Effekten von Isoproterenol, einem direkten Sympathikomimetikum, verglichen, das postsynaptisch an  $\beta$ -adrenerge Rezeptoren im Fettgewebe bindet (14,16,65, 66).

## **2 Methodik**

### **2.1 Probanden**

Es wurden insgesamt 42 gesunde Freiwillige (18 Männer und 24 Frauen) im Alter von 21 bis 37 Jahren ( $27 \pm 3$ ) und einem BMI von 19 bis 27 kg/m<sup>2</sup> ( $22 \pm 3$ ) untersucht. Im Rahmen der Screeninguntersuchung wurde eine ausführliche Anamnese erhoben. Es wurden nur Nichtraucher/innen in die Studien eingeschlossen, da Rauchen die Noradrenalin-Plasmakonzentration erhöhen kann (67). Frauen wurden grundsätzlich nur in der ersten Zyklushälfte untersucht, um mögliche Effekte des Hormonspiegels auf die Lipolyse zu standardisieren (68). Die Probanden wurden ausführlich über Hintergründe und mögliche Risiken der entsprechenden Studie aufgeklärt. Alle Versuchspersonen gaben ihr schriftliches Einverständnis zur entsprechenden Studie. Alle Teilversuche wurden durch die zuständigen Ethikkommissionen genehmigt.

Die Probanden wurden gebeten, zwei Tage vor den Versuchstagen nicht intensiv Sport zu treiben und keine koffeinhaltigen Nahrungsmittel (Schokolade, Tee, Kaffee) sowie keinen Alkohol zu sich zu nehmen. Alle Versuche begannen morgens zwischen 8 und 10 Uhr nach einer ca. 15-stündigen Nahrungskarenz.

### **2.2 Bestimmung der Hautfaltendicke**

Die Variabilität in der Dicke der Hautfalte beruht hauptsächlich auf Unterschieden in der Dicke des subkutanen Fettgewebes (59). Die Hautfaltendicke der Probanden wurde in der vorliegenden Arbeit mittels Caliper-Technik bestimmt (69). Der in dieser Arbeit verwendete Caliper (Lange's Skin Fold Caliper; Beta Technology Incorporated, Cambridge, MD, USA) hat einen Meßbereich von 0-60 mm und Ablesegenauigkeit von 1 mm. Unabhängig vom Öffnungswinkel der beiden beweglichen Meßschenkel wird ein Meßdruck von 10g/mm<sup>2</sup> ausgeübt. Die Messung wurde an einer Hautfalte

in der Mitte der Verbindungslinie *Umbilicus-Crista iliaca*, 5 cm vom Nabel entfernt, durchgeführt. Dazu wurde im Verlauf der genannten Linie eine doppelte Schicht aus Haut und subkutanem Fettgewebe von der Muskulatur abgehoben. Die Dicke der so entstandenen Hautfalte wurde dreimal nacheinander bestimmt und daraus der Mittelwert gebildet.

## 2.3 Mikrodialysetechnik

### 2.3.1 Aufbau des Mikrodialyse-Systems

Kernstück der Methode ist eine lineare, flexible Sonde, die über eine Distanz von einigen Zentimetern semipermeabel ist. Implantiert man eine solche Sonde in ein Gewebe und perfundiert diese mit einer Trägerflüssigkeit, so können durch die semipermeable Membran verschiedene Moleküle entsprechend der Richtung des jeweiligen Konzentrationsgradienten zwischen interstieller Flüssigkeit und Perfusionslösung diffundieren (passive Diffusion). In dieser Arbeit wurden doppel-lumige, konzentrische Mikrodialyse-Sonden (CMA/60, CMA/Microdialysis AB, Solna, Schweden) mit einer Membranlänge von 30 mm und einem Durchmesser von 0,6 mm verwendet (Abb. 4).

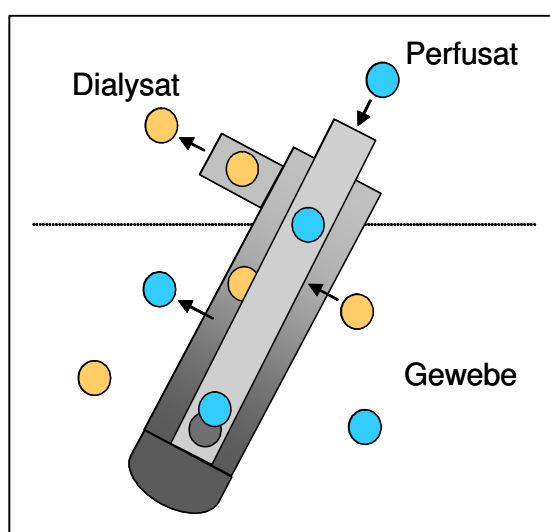


Abb.4: Schematische Darstellung einer doppel-lumigen Mikrodialyse-Sonde

Der molekulare „Cut-Off“ dieser Sonde beträgt 20.000 Dalton, d.h. bis zu diesem Molekulargewicht können Moleküle zwischen Perfusat und Interstitium frei hin und her diffundieren (Tab. 1). Größere Moleküle wie Proteine gelangen nicht durch die Membran, so daß die Proben nicht durch Enzyme degradiert werden können.

Tab. 1: Molekulargewicht ausgewählter Moleküle (in Dalton)

<b>Ethanol</b>	44	<b>Noradrenalin</b>	169
<b>Harnstoff</b>	60	<b>Isoproterenol hydrochlorid</b>	248
<b>Lactat</b>	90	<b>Propranolol hydrochlorid</b>	296
<b>Glycerol</b>	92	<b>Angiotensin II</b>	1184
<b>Tyramin hydrochlorid</b>	174	<b>Lipase</b>	47000
<b>Glucose</b>	180	<b>Albumin</b>	66248

Mit einer Mikroperfusionspumpe (CMA/102, CMA/Microdialysis AB, Solna, Schweden) wurde das Perfusat bei einer Flußrate von 2 µl/min durch die Sonde befördert. Die entstehenden Dialysate wurden in speziellen, geschlossenen Gefäßen (Microvials; CMA/Microdialysis AB, Solna, Schweden) gesammelt. Ein Beispiel für einen Versuchsaufbau eines Mikrodialyse-Versuches ist in Abb.5 dargestellt.





Abb. 5: Proband mit implantierten Mikrodialysesonden im Fettgewebe

### 2.3.2 Implantation der Sonden

Für die Implantation der Sonde in das subkutane Fettgewebe wurde zunächst ca. 10 cm seitlich des Bauchnabels auf ein ca. 6 x 6 cm großes Hautareal ein Oberflächen-Anästhetikum (EMLA<sup>®</sup>, Astra Zeneka GmbH, Wedel) mit dem Wirkstoff Lidocain aufgetragen. Die Einwirkzeit betrug ca. 30 min. Anschließend wurde das Hautareal mittels Cutasept<sup>®</sup>F (Bode Chemie Hamburg, Hamburg) zweimal desinfiziert. Danach wurde eine Hautfalte gebildet und die Haut in etwa der Mitte des Areals mittels einer sterilen Nadel punktiert. Nun wurde die Führungskanüle mit der Sonde (Abb. 6A) zunächst ca. 1 cm senkrecht durch die Punktionsstelle, dann abgeflacht und parallel zur Hautoberfläche in das Fettgewebe vorgeschoben (Abb. 6B). Der Flügel der Sonde wurde senkrecht um etwa 2 mm angehoben und gleichzeitig die Führungskanüle aus dem Fettgewebe gezogen (Abb. 6C). Die Sonde konnte dann an die Mikroperfusionspumpe angeschlossen werden.

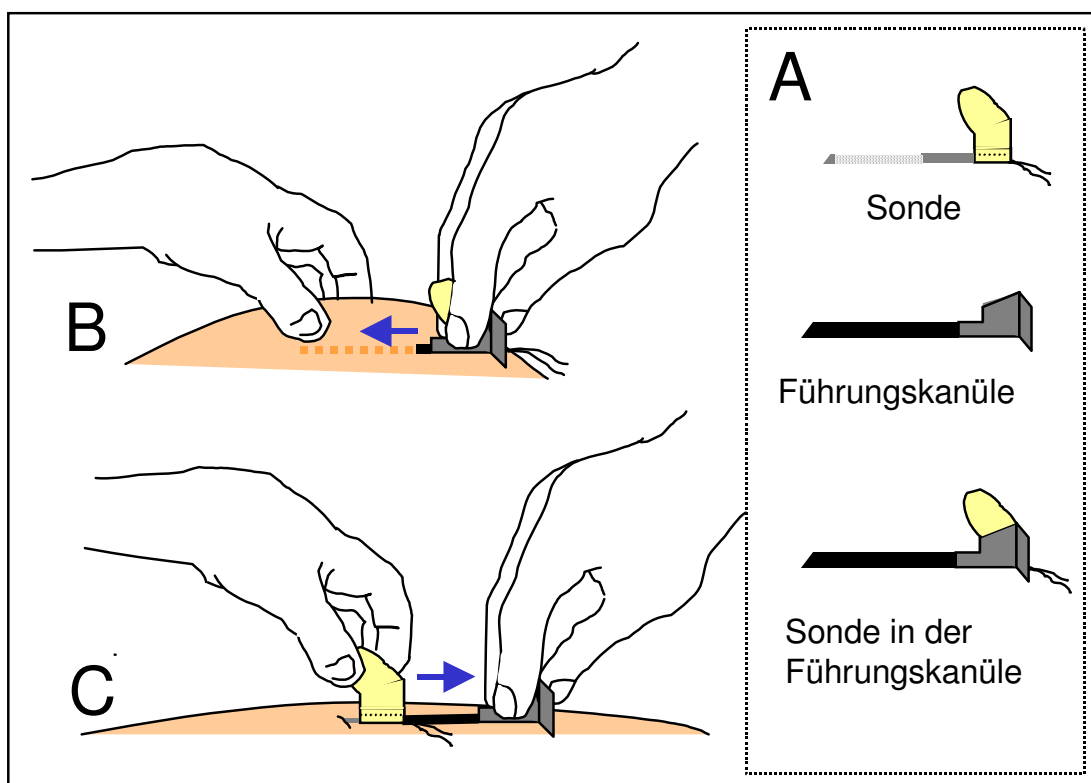


Abb. 6: Implantation der Mikrodialyse-Sonde in das abdominale subkutane Fettgewebe (Erklärungen siehe Text)

Für die Implantation der Sonde in den Skelettmuskel wurde zunächst die Mitte des rechten *M. quadriceps femoris, vastus lateralis* lokalisiert. Dazu wurde die Distanz zwischen *Spina iliaca anterior superior* und oberem Rand der Patella ausgemessen und die Grenze zwischen mittlerem und unterem Drittel dieser Strecke markiert. Etwa 4-6 cm seitlich dieses Punktes wurde eine weitere Markierung gesetzt. Durch leichtes Anspannen des Muskels konnte die Lage dieses Punktes in der Mitte des Muskelbauches noch einmal verifiziert werden. Danach wurde in einem Radius von ca. 8 cm um diesen Punkt das entsprechende Hautareal mittels Cutasept®F (Bode Chemie Hamburg, Hamburg) zweimal desinfiziert. Dann wurden ca. 2 ml eines Lokalanästhetikums (Xylocitin 1%, Jenapharm GmbH & Co. KG, Jena, Deutschland) sowohl subkutan als auch intramuskulär injiziert. Am seitlichen Markierungspunkt wurde die Haut dann mittels einer sterilen Nadel punktiert. Anschließend wurde die Führungskanüle mit der Sonde zunächst ca. 1 cm

senkrecht durch die Punktionsstelle, dann in einem Winkel von 45° zur Oberfläche in Richtung Mitte der Kniescheibe in den Muskel vorgeschoben. Der Flügel der Sonde wurde nun vorsichtig senkrecht um etwa 2 mm angehoben und gleichzeitig die Führungskanüle aus dem Muskel gezogen. Dann wurde auch diese Sonde an das Perfusionssystem angeschlossen. Nach Prüfung der Funktionstüchtigkeit der Sonden wurden diese steril abgedeckt.

### **2.3.3 Experimentelle Protokolle**

In allen Teilstudien wurde das Gewebe zur Untersuchung des Stoffwechsels und der Durchblutung im Grundzustand zunächst mit Ringer-Lösung (Serumwerk Bernburg AG, Bernburg) unter Zusatz von 50 mM Ethanol (Alkohol-Konzentrat 95%, B. Braun Melsungen AG, Melsungen) und 5 µM Ascorbat (Cebion®; Merck Selbstmedikation GmbH, Darmstadt) über 60 min perfundiert.

#### *Untersuchungen zur Noradrenalinfreisetzung*

Tyramin, ein indirekt wirkendes Sympathomimetikum, wurde zur Charakterisierung der Funktion postganglionärer adrenerger Neurone verwendet. Es wird aktiv in die sympathischen Nervenendigungen aufgenommen und fördert die Freisetzung von Noradrenalin aus den sympathischen Neuronen (13). In einer Mikrodialysestudie an der Ratte führte der Zusatz von Tyramin in den auch in dieser Studie verwendeten Dosen zu einem 10-fachen Anstieg der interstitiellen Konzentration von Noradrenalin in Fettgewebe und Skelettmuskel (64). Dabei blieben die arteriellen Plasma-Spiegel von Noradrenalin unbeeinflusst. Die Wirkung des Tyramins wurde mit Isoproterenol, einem direkten Sympathomimetikum, das unspezifisch an  $\beta$ -Adrenozeptoren bindet, verglichen (16).

Die Noradrenalinfreisetzung wurde in vier einzelnen Teilstudien untersucht:

In der ersten Teilstudie wurde das Fettgewebe von 16 (8 Frauen, 8 Männer)

bzw. der Skelettmuskel von 8 weiteren Probanden (8 Männer) mit steigenden Konzentrationen an Tyramin (Sonde 1) oder Isoproterenol (Sonde 2) (Tab. 2).

Tab. 2: Mikrodialyseprotokoll für die erste Teilstudie

PROBE	SONDE 1	SONDE 2
1 bis 3	Basallinie	Basallinie
4 bis 6	0,35 mM Tyramin	0,01 µM Isoproterenol
7 bis 9	3,5 mM Tyramin	0,1 µM Isoproterenol
10 bis 12	35 mM Tyramin	1 µM Isoproterenol
13 bis 15	350 mM Tyramin	10 µM Isoproterenol

Probe 1: Laufzeit 30 min; Probe 2 bis 15: Laufzeit 15 min

In der zweiten Teilstudie wurde das Fettgewebe von 5 Probanden (3 Frauen, 2 Männer) mit steigenden Konzentrationen an Tyramin (Sonde 1) oder zusätzlich mit dem  $\beta$ -Adrenozeptor-Blocker Propranolol (Sonde 2) perfundiert (Tab.3). Damit sollte geprüft werden, ob der  $\beta$ -Adrenozeptor in die tyramin-induzierte Lipolyse involviert ist.

Tab. 3: Mikrodialyseprotokoll für die zweite Teilstudie

PROBE	SONDE 1	SONDE 2
1 bis 3	Basallinie	Basallinie
4 bis 6	0,35 mM Tyramin	0,35 mM Tyramin + 100 µM Propranolol
7 bis 9	3,5 mM Tyramin	3,5 mM Tyramin + 100 µM Propranolol
10 bis 12	35 mM Tyramin	35 mM Tyramin + 100 µM Propranolol
13 bis 15	350 mM Tyramin	350 mM Tyramin + 100 µM Propranolol

Probe 1: Laufzeit 30 min; Probe 2 bis 15: Laufzeit 15 min

In der dritten Teilstudie wurde das Fettgewebe von 5 weiteren Probanden (3 Frauen, 2 Männer) mit steigenden Konzentrationen an Isoproterenol (Sonde 1) oder zusätzlich mit dem  $\beta$ -Adrenozeptor-Blocker Propranolol (Sonde 2) (Tab. 4). Dieser Versuch diente dazu, die Effektivität des  $\beta$ -Adrenozeptor-Blockers im Fettgewebe zu prüfen.

Tab. 4: Mikrodialyseprotokoll für die dritte Teilstudie

PROBE	SONDE 1	SONDE 2
1 bis 3	Basallinie	Basallinie
4 bis 6	0,01 $\mu$ M Isoproterenol	0,01 $\mu$ M Isoproterenol + 100 $\mu$ M Propranolol
7 bis 9	0,1 $\mu$ M Isoproterenol	0,1 $\mu$ M Isoproterenol + 100 $\mu$ M Propranolol
10 bis 12	1 $\mu$ M Isoproterenol	1 $\mu$ M Isoproterenol + 100 $\mu$ M Propranolol
13 bis 15	10 $\mu$ M Isoproterenol	10 $\mu$ M Isoproterenol + 100 $\mu$ M Propranolol

Probe 1: Laufzeit 30 min; Probe 2 bis 15: Laufzeit 15 min

In der vierten Teilstudie wurde das Fettgewebe von 5 weiteren Probanden (3 Frauen, 2 Männern) mit steigenden Konzentrationen an Dopamin (Sonde 1) oder zusätzlich mit dem  $\beta$ -Adrenozeptor-Blocker Propranolol (Sonde 2) perfundiert (Tab. 5). Tyramin in wässriger Lösung kann zu etwa 1% mit Dopamin kontaminiert sein (63,70,71). In der vorliegenden Arbeit wurde lyophilisiertes Tyramin verwendet und die Verdünnungslösungen wurden kurz vor Beginn jeden Versuches frisch hergestellt, um diesen Oxidationsvorgang zu vermeiden. Außerdem wurde dem Perfusat das Antioxidanz Ascorbat zugesetzt. Um tatsächlich auszuschließen, daß die Effekte des Tyramins auf eine Dopamin-Kontamination zurückzuführen sind, wurde zusätzlich die Wirkung von Dopamin im Fettgewebe geprüft. So zeigten sich in tierexperimentellen Studien Effekte von Dopamin auf

Stoffwechsel und Durchblutung des Fettgewebes (72,73). Die Dopamin-Konzentrationen entsprachen in der vorliegenden Arbeit 1% der verwendeten Tyramin-Konzentrationen.

Tab. 5: Mikrodialyseprotokoll für die vierte Teilstudie

PROBE	SONDE 1	SONDE 2
1 bis 3	Basallinie	Basallinie
4 bis 6	3,5 $\mu$ M Dopamin	3,5 $\mu$ M Dopamin + 100 $\mu$ M Propranolol
7 bis 9	35 $\mu$ M Dopamin	35 $\mu$ M Dopamin + 100 $\mu$ M Propranolol
10 bis 12	0,35 mM Dopamin	0,35 mM Dopamin + 100 $\mu$ M Propranolol
13 bis 15	3,5 mM Dopamin	3,5 mM Dopamin + 100 $\mu$ M Propranolol

Probe 1: Laufzeit 30 min; Probe 2 bis 15: Laufzeit 15 min

### Untersuchungen zur lokalen Wirkung von Angiotensin II

Das Fettgewebe von 16 Probanden (8 Frauen, 8 Männer) bzw. der Skelettmuskel von 8 weiteren Probanden (8 Männer) wurde mit steigenden Konzentrationen an Angiotensin II perfundiert (Tab. 6).

Tab. 6: Mikrodialyseprotokoll zur Untersuchung der Wirkung von Angiotensin II

PROBE	SONDE 1
1 bis 3	Basallinie
4 bis 6	0,01 $\mu$ M Angiotensin II
7 bis 9	0,1 $\mu$ M Angiotensin II
10 bis 12	1 $\mu$ M Angiotensin II

Probe 1: Laufzeit 30 min; Probe 2 bis 12: Laufzeit 15 min

### Untersuchungen zum Einfluß der Hautfaltendicke

Das Fettgewebe von 16 Probanden (8 Frauen, 8 Männer) wurde mit steigenden Konzentrationen an Isoproterenol perfundiert (Tab. 7).

Tab. 7: Mikrodialyseprotokoll zur Untersuchung der Rolle der Hautfaltendicke

<b>PROBE</b>	<b>SONDE 1</b>
1 bis 3	Basallinie
4 bis 6	0,01 µM Isoproterenol
7 bis 9	0,1 µM Isoproterenol
10 bis 12	1 µM Isoproterenol
13 bis 15	10 µM Isoproterenol

Probe 1: Laufzeit 30 min; Probe 2 bis 12: Laufzeit 15 min

Tyramin und Angiotensin II wurden von der Firma Clinalfa AG, Läfelfingen, Deutschland; Isoproterenol (Isuprel®) von Abbott S.p.A., Campoverde, Italien; Dopamin (Dopamin Solvay® 250 Infus C) von Solvay Arzneimittel GmbH, Hannover, Deutschland; Propranolol (Obsidan®) von Alpha-Pharma-Isis GmbH & Co KG, Langenfeld, Deutschland; bezogen.

## **2.3.4 Marker für Veränderungen in Durchblutung und Stoffwechsel**

### *2.3.4.1 Durchblutung*

Hämodynamische Änderungen im Gewebe wurden mittels Ethanol-Dilutions-Technik erfaßt (74,75). Diese Technik wurde mittels  $^{133}\text{Xe}$ -Washout-Methode validiert und kann Änderungen in der lokalen Durchblutung >50% erfassen (76,77). Die  $^{133}\text{Xe}$ -Washout-Methode ist für die Studien der vorliegenden Arbeit nicht geeignet, da sich mit dieser Methode keine

Durchblutungsänderungen in unmittelbarer Umgebung der Mikrodialyse-Sonde abschätzen lassen (8). Dem Perfusat wurden 50 mM Ethanol zugesetzt. Ein Teil des Ethanols diffundiert in das Gewebe und von dort in umliegende Blutkapillaren. Je stärker die Durchblutung im Gewebe ist, je höher ist der Ethanol-Abtransport aus dem Gewebe und um so kleiner wird die Ethanol-Konzentration im Dialysat. Eine Erniedrigung des Verhältnisses  $\frac{[\text{Ethanol}]_{\text{Dialysat}}}{[\text{Ethanol}]_{\text{Perfusat}}}$  (= Ethanol Ratio) entspricht einem Anstieg, eine Erhöhung einer Verminderung der Durchblutung.

#### *2.3.4.2 Fettstoffwechsel*

Die Glycerol-Konzentration im Dialysat diene als Indikator für die Lipolyse im Fettgewebe (78). Es entsteht neben den freien Fettsäuren aus der Hydrolyse von Triacylglyceriden. Aufgrund der fehlenden Glycerokinase kann Glycerol nicht mehr zurück in Glycerinaldehyd-1-phosphat umgebaut werden und eignet sich somit zur Abschätzung der Lipolyse bzw. Lipidmobilisierung im Fettgewebe (78,79).

#### *2.3.4.3 Kohlenhydratstoffwechsel*

Glucose dient im Fettgewebe hauptsächlich der Produktion von Glycerinaldehyd-3-phosphat, welches in Glycerin-1-phosphat umgebaut wird. Glycerin-1-phosphat wird für den Aufbau von Triacylglyceriden benötigt (14). Die Glucose-Konzentration im Dialysat ist ein Indikator für die nutritive Versorgung des Fettgewebes. Außerdem ist das Fettgewebe in der Lage, Lactat aus Glucose zu bilden (80). Die Lactat-Konzentration im Dialysat wurde daher bestimmt, um die glycolytische Aktivität des Fettgewebes abzuschätzen (80).



### 2.3.5 Recovery der Markermetaboliten

Bei einer Flußrate des Perfusats von 2 µl/min wird kein 100%iges Equilibrium zwischen Dialysat und Interstitium erreicht, d.h. die Konzentration eines bestimmten Metaboliten ist im Dialysat stets geringer als im Interstitium. Eine Erfassung der tatsächlichen interstitiellen Konzentration eines Metaboliten ist daher bei dieser Flußrate nicht möglich. Die Recovery ( $[\text{Metabolit}]_{\text{Perfusat}}/[\text{Metabolit}]_{\text{Interstitium}}$ ) ist abhängig von der Flußrate, der Länge der semipermeablen Membran, dem Molekulargewicht, der Chemie der Substanz sowie der Struktur des Gewebes (81). In Vorarbeiten wurden mittels der *Near-Equilibrium-Methode* (Flußrate 0,3 µl/min) die relativen Recoveries für Glucose, Glycerol und Lactat in Fettgewebe und Skelettmuskulatur bestimmt (Tab. 8;82,83). Werden die Perfusionsbedingungen, wie z.B. die Flußrate, nicht verändert, bleibt auch die relative Recovery *in vivo* konstant (62). Die Recoveries der untersuchten Moleküle sind im Fettgewebe jedoch geringer als in der Skelettmuskulatur. Daher können nur Verlaufsänderungen in der Metabolitenkonzentration verglichen werden.

Tab. 8: Recovery verschiedener Moleküle im Dialysat von Fettgewebe und Skelettmuskulatur ( $[\text{Metabolit}]_{\text{Perfusat}}/[\text{Metabolit}]_{\text{Interstitium}}$ )

	FETTGEWEBE	SKELETTMUSKEL
<b>Glucose</b>	0,29 ± 0,05	0,50 ± 0,02
<b>Lactat</b>	0,31 ± 0,06	0,44 ± 0,07
<b>Pyruvat</b>	-	0,50 ± 0,04
<b>Glycerol</b>	0,29 ± 0,06	0,55 ± 0,11

Die Daten sind als Mittelwerte ± SEM dargestellt, n = 6.

### **2.3.6 Probenlagerung**

Die Gefäße mit den Dialysaten wurden während des Versuches bei 4 °C gelagert und nach Versuchsende bis zur Analyse bei –20 °C eingefroren. Der für die Ethanol Bestimmung benötigte Teil des Dialysates (10 µl) wurde vor dem Einfrieren in Perchlorsäure gefällt und bei 4 - 8 °C in Eppendorf-Gefäßen gelagert.

## **2.4 Isolierung und Inkubation der Adipocyten**

Inkubationen isolierter Adipocyten wurden seit der Einführung von Rodbell 1964 für zahlreiche metabolische und pharmakologische Untersuchungen eingesetzt (84). Die für diese Arbeit verwendeten humanen Adipocyten wurden aus subkutanem Brustfettgewebe isoliert, das von gesunden Frauen erhalten wurde, die sich einer operativen Reduktion des Brustfettgewebes unterzogen haben. Die lipolytische Antwort gegenüber Noradrenalin zwischen Adipocyten aus der Brustregion und abdominalen Adipocyten unterscheidet sich bei prämenopausalen Frauen nicht (85).

### **2.4.1 Isolation der Adipocyten**

Die Isolation wurde mittels Collagenase-Digestion modifiziert nach Janke et al. durchgeführt (86). Das Fettgewebe wurde in kleine Stücke geschnitten, in HBSS gewaschen und für 5 min bei 380 g zentrifugiert. Die Gewebeteile wurden dann in einen Isolationspuffer überführt (0,7 g Gewebe/ml HBSS), der mit 25 mM HEPES, 200 µg/ml Kanamycin, 100 U/ml Penicillin, 100 µg/ml Streptomycin, 3% BSA, 0,75 mg/ml Collagenase supplementiert wurde. Anschließend erfolgte die Inkubation bei 37 °C unter leichtem Schütteln (60 bis 80 rpm) für 60 bis 90 min. Die so entstandene Zellsuspension wurde nun durch ein Siebgewebetrichter aus Polypropylen filtriert, um sie von Bindegewebsresten zu trennen. Die Adipocyten wurden dann aliquotiert und mehrmals im Inkubationspuffer (Siehe 2.4.2) gewaschen. Die Zellzahl betrug zwischen 50.000 und 100.000 Adipocyten pro ml.

### 2.4.2 Inkubation der Adipocyten

Die Inkubation der humanen Adipocyten wurde nach einer von Morimoto et al. beschriebenen Methode mit einigen Modifikationen durchgeführt (87). Der Inkubationspuffer (Krebs-Ringer-Puffer, Zusammensetzung: 25 mM Hepes; 118 mM NaCl; 4,8 mM KCl; 1,2 mM  $\text{MgSO}_4$ ; 1,2 mM  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ; pH 7,4; alle Merck, Darmstadt) wurde mit BSA (1%, w/v; Sigma-Aldrich), Glucose (5 mM; Merck, Darmstadt) und Ascorbat (5  $\mu\text{M}$ ; Merck, Darmstadt) supplementiert (88). Je 400  $\mu\text{l}$  des Puffers wurden dann entweder keine Substanz (Kontrolle) oder 1  $\mu\text{M}$  Isoproterenol (Sigma-Aldrich, Deisenhofen) oder 0,35; 3,5; 35 bzw. 350 mM Tyramin (Sigma-Aldrich, Deisenhofen) zugesetzt. Anschließend wurden 100  $\mu\text{l}$  der Adipocyten aus dem Isolationsmedium entnommen und in die vorbereiteten Eppendorf-Gefäße überführt (3- bis 4-fach-Ansätze). Durch permanentes Mischen während der Entnahme sollte erreicht werden, daß sich die Zellpopulation innerhalb der Inkubationsansätze eines Probanden gleich zusammensetzt. Die Lipolyse ist von der Adipocytengröße abhängig (89,90). Die Zellgrößen wurden nicht bestimmt, da keine interindividuellen Vergleiche durchgeführt wurden. Die Ansätze wurden im Schüttelthermostaten bei 45 rpm für 2 Stunden bei 37 °C inkubiert. Die Inkubation wurde dadurch beendet, daß die Eppendorf-Gefäße auf Eis gestellt wurden. Aus dem Zellunterstand wurden 350  $\mu\text{l}$  Medium entnommen.

## **2.5 Probenaufbereitung**

### **2.5.1 Mikrodialysate**

Die Mikrodialysate waren frei von Proteinen, da diese aufgrund ihres Molekulargewichts nicht durch die Poren der Sondenmembran gelangen. Für die Bestimmung der Metaboliten mittels Analyser mußten die Mikrodialyseproben daher nicht speziell aufgearbeitet werden. Für die Bestimmung der Ethanol-Konzentration wurden, um evtl. vorhandene Peptide auszufällen, für 10 µl Dialysat 90 µl 0,33 N Perchlorsäure (Merck KgaA, Darmstadt) in Eppendorf-Gefäßen (Sarstedt, Nümbrecht) vorgelegt. Anschließend wurde die Lösung für 1 min bei 14.000 rpm zentrifugiert (Eppendorfszentrifuge 5415C; Eppendorf Hamburg).

### **2.5.2 Inkubationsmedien**

Die Inkubationsmedien enthielten im Gegensatz zu den Mikrodialysaten Protein (BSA). Die Proben wurden daher vor der Analytik mit 1 M Perchlorsäure gefällt, bei 14.000 rpm für 5 min zentrifugiert und der Überstand anschließend mit 1 M NaOH-Tris neutralisiert (pH 7,4).

## **2.6 Assays**

### **2.6.1 Bestimmung der Ethanol-Konzentration**

Die Ethanol-Konzentration in den Perfusaten und Dialysaten wurde spektrophotometrisch bestimmt. Die Methode basiert auf einem optischen Test nach Warburg und wurde ursprünglich von Bernd und Gutmann entwickelt (91). Ethanol wird durch die ADH in Anwesenheit von  $\text{NAD}^+$  zu Acetaldehyd, NADH und Protonen umgesetzt. Das Absorptionsmaximum von NADH liegt bei 340 nm, weshalb die Extinktionszunahme bei der Bildung von NADH bei dieser Wellenlänge bestimmt wurde. Die Bildung von NADH ist direkt proportional zur Ethanol-Konzentration in den Dialysaten. Das

Volumen der Dialysate ist sehr klein und die Konzentration an Ethanol zudem gering, so daß die Methode entsprechend modifiziert wurde.

Für den Ethanol-Puffer wurden

16,667 g tetra-Natriumdiphosphat-Decahydrat

4,167 g Semicarbacidhydrochlorid

0,833 g Glycin (alle Merck KgaA, Darmstadt)

in zunächst ca. 400 ml Reinstwasser gelöst. Der pH-Wert des Puffers wurde mittels 4 M Natronlauge (Merck KgaA, Darmstadt) mit Hilfe eines pH-Meters (pH-Meter 713; Metrohm GmbH & Co, Filderstadt) auf 8,7 eingestellt. Dann wurde der Puffer mit Reinstwasser auf 500 ml aufgefüllt.

Für die NAD-Lösung wurden 50 mg NAD (Sigma-Aldrich-Chemie GmbH, Taufkirchen) und für die ADH-Lösung 30.000 U ADH (Sigma-Aldrich-Chemie GmbH, Taufkirchen) in jeweils 10 ml Reinstwasser gelöst.

Es wurden 20 µl Probe aus dem Überstand der Perchlorsäurefällung entnommen und mit 960 µl Ethanol-Puffer sowie 20 µl NAD-Lösung in ein anderes Eppendorf-Gefäß pipettiert. Um die enzymatische Reaktion zu starten, wurden 10 µl der ADH-Lösung zugegeben und die Reagenzien anschließend gut vermischt. Die Proben wurden dann in einem Schüttelthermostaten (Julabo SW-21C; Kleinfeld Labortechnik, Hannover) bei 25 °C für 70 min inkubiert. Nach der Inkubation wurde die NADH-Konzentration der Proben in einer Acrylküvette (Sarstedt, Nümbrecht) bei 340 nm photometrisch bestimmt (UV/VIS Spectrometer Lambda 2S; Perkin Elmer GmbH, Berlin). Die Ethanol-Konzentrationen der Dialysate wurde über eine Standardreihe bestimmt. Diese ging von einer Stammlösung (1000 mM) aus 59 µl absoluten 99,8%igen und 942 µl Ringer-Lösung aus (Tab. 9). Die Lösungen wurden jeweils aus den nächst höheren Konzentrationen verdünnt.

Tab. 9: Pipettier-Schema für die Ethanol-Standard-Reihe

<b>RINGER-LÖSUNG (μL)</b>	<b>VORHERGEHENDE LÖSUNG (μL)</b>	<b>KONZENTRATION (MM)</b>
		1000
900	100	100
500	500	50
200	800	40
250	750	30
333	667	20
500	500	10
500	500	5
500	500	2,5
500	500	1,25
500	500	0,625
500	0	0

Die Standardlösungen (je 10 μl) mit der Konzentration von 0 bis 50 mM Ethanol wurden ebenfalls mit 0,33 N Perchlorsäure gefällt und die Extinktion photometrisch bestimmt. Die Extinktionen der Proben wurden gegen die Extinktionen der Standardreihe graphisch aufgetragen und die Gleichung der Regressionsgraden ermittelt (Abb.7). Vorausgesetzt wurde ein Korrelationskoeffizient von  $r^2 > 0,99$ .

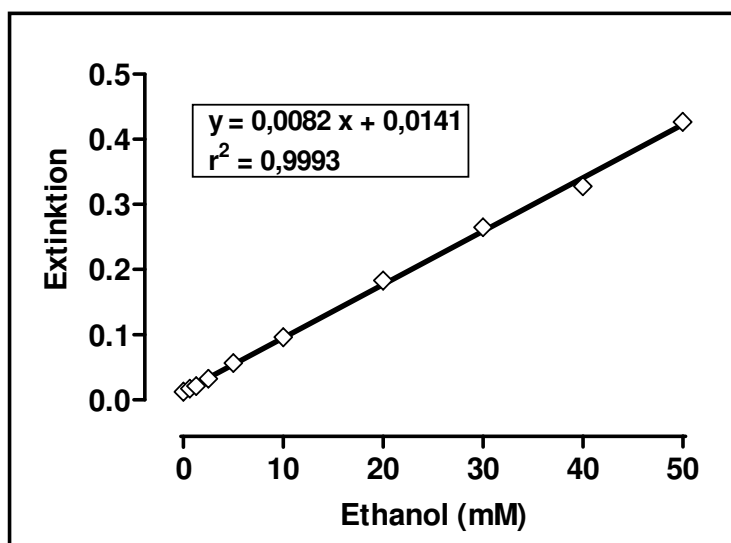


Abb. 7: Repräsentatives Beispiel einer Standard-Ethanol-Reihe

## 2.7 Bestimmung der Metaboliten-Konzentration

Der CMA 600 Mikrodialyse Analyser wurde speziell für die kleinen Volumina der Dialysate entwickelt. Die Messung mit dem Analyser (CMA Microdialysis AB, Solna, Schweden) erfordert nur 1/10 des von herkömmlichen Analysatoren benötigten Probevolumens. Sie erfolgte colourimetrisch unter Verwendung entsprechender Enzym-Reagenzien und eines Calibrators (alle CMA Microdialysis AB, Solna, Schweden) nach folgenden Prinzipien:

*Glucose* wird mittels Glucoseoxidase zu Gluconolactone und Wasserstoffperoxid umgesetzt. Wasserstoffperoxid reagiert mit 4-Amino-Antipyrin und Phenol über die Peroxidase zu einem rot-violetten Farbstoff, dem Quinonimin.

*Lactat* wird mittels Lactatoxidase zu Pyruvat und Wasserstoffperoxid umgebaut. Letzteres reagiert mit 4-Amino-Antipyrin und Chlorophenol über die Peroxidase zu Quinonimin.

*Glycerol* wird unter Verbrauch von ATP mittels Glycerokinase zu Glycerol-3-Phosphat phosphoryliert, welches dann in Anwesenheit der Glycerol-3-Phosphat-Oxidase oxidiert wird. Das dabei gebildete Wasserstoffperoxid

reagiert in einer Peroxidase-Reaktion mit DCHBS und 4-Amino-Antipyrin zu Quinonimin.

Die Bildungsrate des Quinonimins wurde jeweils bei 546 nm bestimmt und ist proportional zur Glucose-, Lactat- bzw. Glycerolkonzentration.

*Harnstoff* wird mittels Urease zu Ammoniumionen und CO<sub>2</sub> hydrolysiert. Die Ammoniumionen reagieren mit 2-Oxoglutarat in Anwesenheit der GIDH und NADH zu Glutamat und NAD<sup>+</sup> + H<sup>+</sup>. Die Bildungsrate von NADH wurde photometrisch bei 365 nm gemessen und ist proportional zur Harnstoffkonzentration.

Vor und nach jedem Probelauf wurde eine Messung mit einer Testprobe (Kalibrator:Reinstwasser, 1:5) durchgeführt, um eventuelle Abweichungen festzustellen. Die Gefäße mit den Dialysaten wurden unmittelbar vor der Messung für einige Sekunden bei ca. 4.000 rpm zentrifugiert (Eppendorfszentrifuge 5415C; Eppendorf, Hamburg), da entstehende Gasbläschen zu größeren Abweichungen führen.



## 2.8 Statistische Analyse

Alle Daten sind als Mittelwerte  $\pm$  Standardfehler der Mittelwerte dargestellt. Für die Korrelationen mit der Hautfaltendicke wurden die Daten als individuelle Einzelwerte angegeben.

Intraindividuelle Unterschiede wurden mittels One-Way ANOVA für wiederholte Messungen mit anschließendem Dunnett's Multiplen Vergleichstest verglichen. Multiple Vergleiche (Kontrolle vs. Adrenozeptor-Blockade) wurden mittels Two-way ANOVA für wiederholte Messungen mit anschließendem Bonferroni Posttest auf signifikante Unterschiede untersucht. Die Abhängigkeit der Metaboliten und der Ethanol Ratio von der Hautfaltendicke sowie der Metabolite von der Ethanol Ratio wurden mittels linearer Regressionsanalyse ermittelt (Pearson Korrelation). Für den Vergleich der Mittelwerte der Hautfaltendicke wurde der ungepaarte T-Test verwendet.

Statistische Signifikanz wurde bei einem p-Wert unter 0,05 angenommen. In den Abbildungen steht \* für  $p < 0,05$ ; \*\* für  $p < 0,01$  und \*\*\* für  $p < 0,001$ . Zur statistischen Auswertung und zur Erstellung der graphischen Darstellungen wurde das Statistikprogramm InStat, Version 3.0 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA) benutzt.

## 3 Ergebnisse

### 3.1 Validierung der Mikrodialysetechnik im subkutanen Fettgewebe

#### 3.1.1 Stabilität des Mikrodialyse-Systems

Mittels nachfolgender Untersuchungen sollte gezeigt werden, daß innerhalb des Zeitraumes, in dem die Mikrodialyse durchgeführt wird, keine signifikanten Änderungen von basaler Durchblutung und Stoffwechsel im Fettgewebe auftreten (Abb.8).

*Durchblutung.* Die Ethanol Ratio lag nach 60 min bei  $0,45 \pm 0,08$  und zeigte bis zum Versuchsende ( $t = 240$  min) keine signifikanten Veränderungen (Abb. 8A).

*Metabolite.* Die Glycerol-Konzentration im Dialysat betrug nach 60 min  $86 \pm 25$   $\mu$ M und blieb nachfolgend unverändert (Abb. 8B). Die Glucose- bzw. Lactat-Konzentrationen im Dialysat lagen nach 60 min bei  $0,86 \pm 0,25$  mM bzw.  $0,36 \pm 0,11$  mM und blieben ebenfalls bis zum Versuchsende unverändert (Abb. 8C u. D).

→ Die basale Durchblutung, Lipolyse, nutritive Versorgung und Glycolyse im subkutanen Fettgewebe blieben über den Untersuchungszeitraum von 240 min stabil.

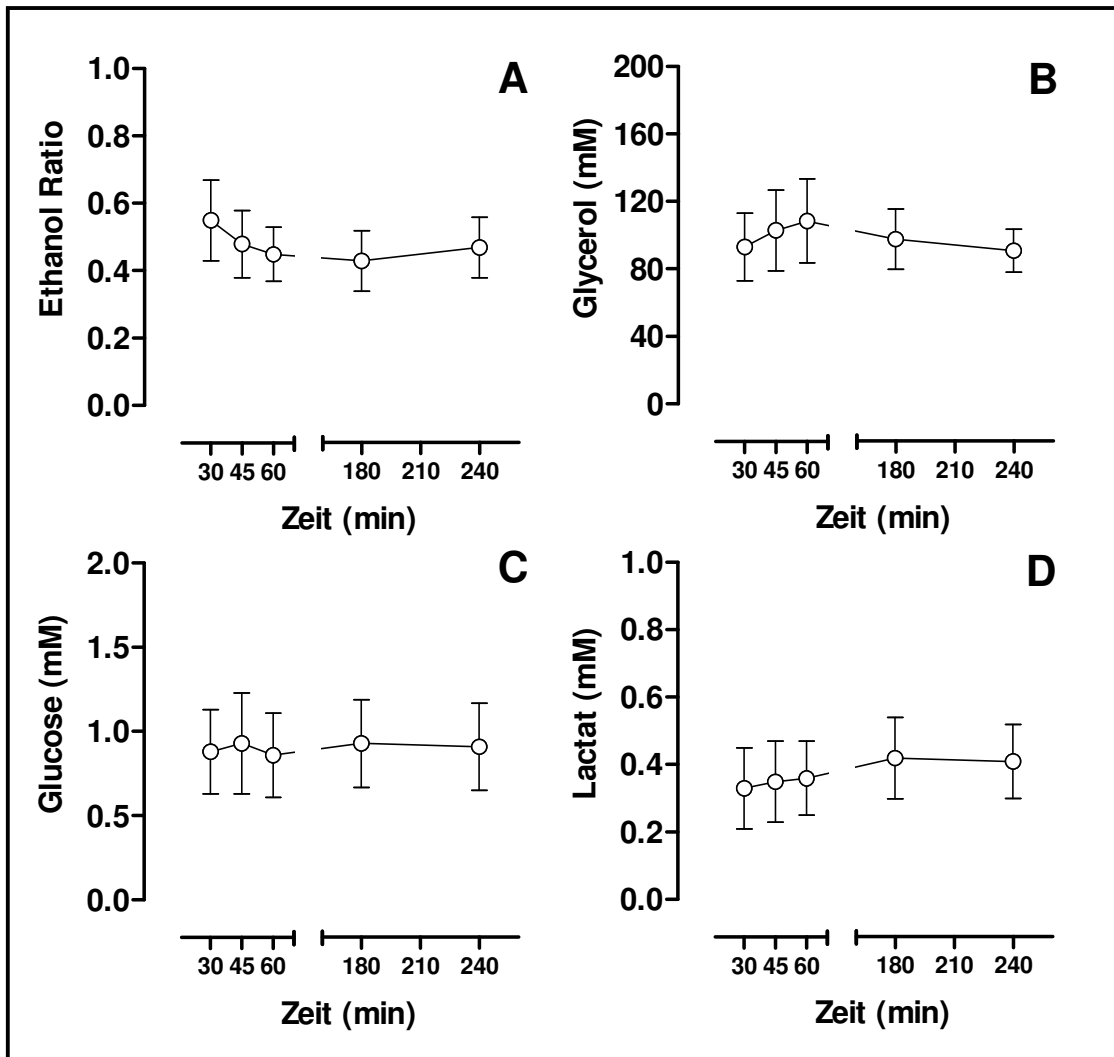


Abb. 8: Basale Ethanol Ratio (A), Glycerol- (B), Glucose- (C) und Lactat-Dialysat-Konzentration (D) im subkutanen abdominalen Fettgewebe von normalgewichtigen Frauen (n=7) während eines ikrodialysversuchs über 4 Stunden. Die Daten sind als Mittelwerte  $\pm$  SEM angegeben. Statistische Analyse: Zeitpunkt 30 min vs. 45, 60, 180 und 240 min; One-way ANOVA und Dunett's Multiple Comparison Test.

### 3.1.2 Ethanol-Dilutions-Technik

Diese Untersuchungen dienten dazu, zu zeigen, daß die Ethanol-Dilutions-Technik eine valide Methode ist, um Änderungen der Durchblutung im Gewebe zuverlässig anzuzeigen. Dazu wurde die Beziehung zwischen der Änderung der Ethanol-Ratio und der Änderung eines Marker-Metaboliten (endogener Harnstoff) aus dem Dialysat untersucht, der im Fettgewebe weder gebildet noch verbraucht wird (92). Vergleichend dazu wurde die Beziehung zwischen Ethanol-Ratio und Dialysat-Glucose untersucht.

Die basale Harnstoff-Konzentration im Dialysat zeigt im Fettgewebe beider Geschlechter eine negative lineare Korrelation mit der Ethanol Ratio (Frauen:  $p = 0,0002$ ; Männer:  $p = 0,0016$ ; Abb. 9A). Ebenso verhielt sich die basale Glucose-Konzentration im Dialysat zur Ethanol Ratio (Frauen:  $p = 0,0045$ ; Männern:  $p = 0,0100$ ; Abb. 9B).

→ Harnstoff- und Glucose-Konzentration in den Dialysaten des Fettgewebes korrelierten umgekehrt proportional mit der Ethanol Ratio.

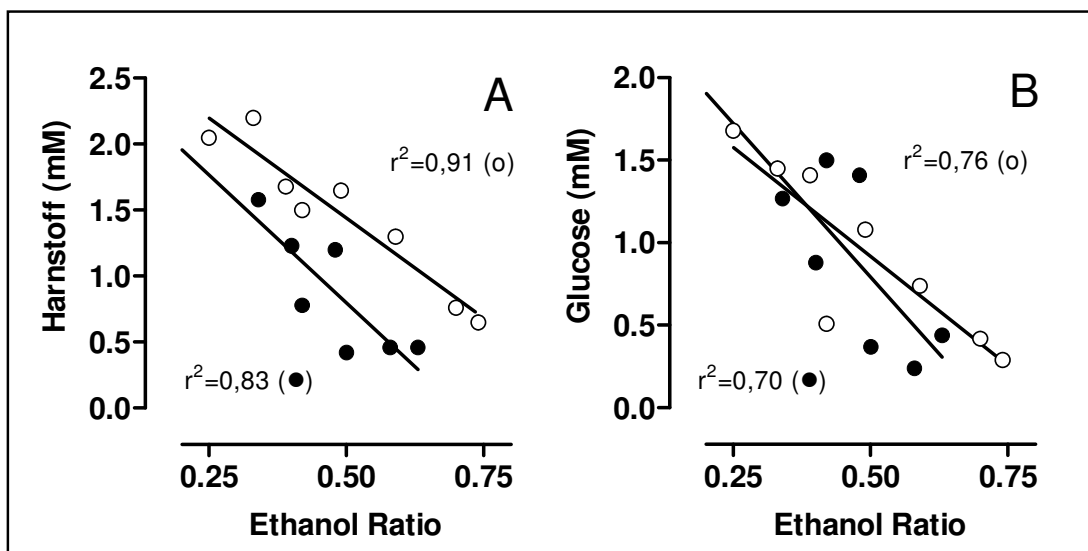


Abb. 9: Zusammenhang zwischen Harnstoff- (A) sowie Glucose-Konzentration (B) im Dialysat und der Ethanol Ratio im subkutanen abdominalen Fettgewebe von Frauen (○, n=8) und Männern (●, n=8). Die Daten sind als Einzelwerte angegeben. Statistische Analyse: lineare Regressionsanalyse (Pearsson Korrelation).

## 3.2 Adrenerge Regulation

### 3.2.1 Wirkungen von Tyramin auf die Lipolyse isolierter Adipocyten

Diese Teilstudie sollte prüfen, ob steigende Tyramin-Dosen postsynaptische, lipolytische Effekte an isolierten, humanen Adipocyten zeigen. Um die Vitalität der Zellen zu prüfen, wurde ein weiterer Teil der Adipocyten mit 1  $\mu$ M Isoproterenol inkubiert.

Die basale Glycerol-Produktion betrug  $21 \pm 2 \mu\text{M} / 100 \mu\text{l Zellen} / 2 \text{ Stunden}$  (Abb. 10). Tyramin änderte im Vergleich zur Kontrolle die Glycerol-Konzentration im Inkubationsmedium bis zu einer Dosis von 35 mM nicht signifikant. Dagegen sank die Glycerol-Konzentration bei der höchsten Tyramin-Dosis (350 mM) unter die der Kontrolle ( $6 \pm 1 \mu\text{M} / 100 \mu\text{l Zellen} / 2 \text{ Stunden}$ ;  $p < 0,05$ ; Tyramin vs. Kontrolle). Isoproterenol (1  $\mu$ M) führte zu einem deutlichen Anstieg der Glycerol-Produktion im Medium auf  $83 \pm 19 \mu\text{M} / 100 \mu\text{l Zellen} / 2 \text{ Stunden}$  ( $p < 0,001$ ; Isoproterenol vs. Kontrolle).

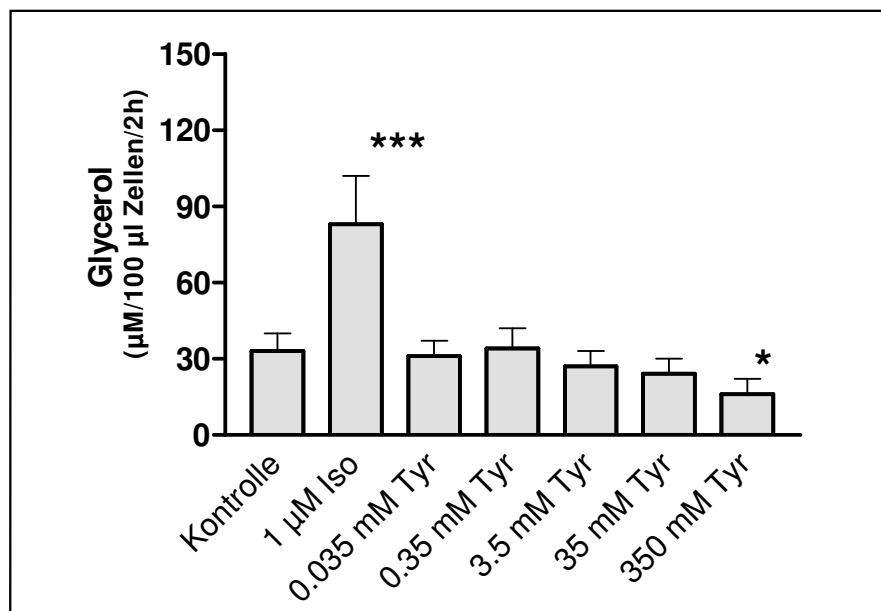


Abb. 10: Glycerol-Konzentration im Medium während der Inkubation isolierter Adipocyten basal (Kontrolle) und unter 1  $\mu$ M Isoproterenol bzw. 0,035, 0,35, 3,5, 35 und 350 mM Tyramin ( $n = 6$ ). Die Daten sind als Mittelwerte  $\pm$  SEM angegeben. \*\*\*)  $p < 0,001$ ; \*)  $p < 0,05$ ; Isoproterenol bzw. Tyramin vs. basal, One-way ANOVA und Dunnett's Multiple Comparison Test.

→ Tyramin beeinflusste die Lipolyse der inkubierten Adipocyten bis zu einer Konzentration von 35 mM nicht signifikant. Isoproterenol führte dagegen zu einem deutlichen Anstieg der lipolytischen Aktivität der Adipocyten. Wurden die Zellen mit 350 mM Tyramin inkubiert, wirkte Tyramin antilipolytisch.

### 3.2.2 Wirkungen von Tyramin im Fettgewebe

*Durchblutung.* Die basale Ethanol Ratio betrug bei den Frauen  $0,46 \pm 0,05$ , bei den Männern  $0,41 \pm 0,04$  (n.s.; Frauen vs. Männer; Abb. 11A). Niedrige Tyramin-Konzentrationen im Perfusat (0,35 mM bis 3,5 mM Tyramin) ließen die Ethanol Ratio im Fettgewebe beider Geschlechter unverändert. Höhere Tyramin-Dosen (35 bis 350 mM) führten zu einem Absinken der Ethanol Ratio auf  $0,30 \pm 0,05$  bei den Frauen und auf  $0,27 \pm 0,03$  bei den Männern (jeweils  $p < 0,001$ , Tyramin vs. basal). Dabei lagen keine signifikanten Unterschiede zwischen Frauen und Männern vor.

*Metabolite.* Die basale Dialysat-Konzentration von Glycerol betrug bei den Frauen  $91 \pm 14 \mu\text{M}$  und bei den Männern  $76 \pm 10 \mu\text{M}$  (n.s., Frauen vs. Männer; Abb. 11B). Während der Perfusion mit niedrigen Tyramin-Dosen erhöhte sich die Glycerol-Konzentration bei den Frauen auf maximal  $207 \pm 26 \mu\text{M}$ , bei den Männern auf  $160 \pm 23 \mu\text{M}$  (jeweils  $p < 0,001$ , Tyramin vs. basal;  $p < 0,05$ , Frauen vs. Männer). Unter 35 mM Tyramin im Perfusat sank die Glycerol-Konzentration wieder ab, unter 350 mM Tyramin im Perfusat sank die Glycerol-Konzentration sogar unter die Ausgangswerte auf  $46 \pm 5 \mu\text{M}$  bei den Frauen bzw.  $40 \pm 3 \mu\text{M}$  bei den Männern (jeweils  $p < 0,05$ , Tyramin vs. basal; n.s., Frauen vs. Männer).

Die basale Dialysat-Konzentration von Glucose betrug bei den Frauen  $0,92 \pm 0,15 \text{ mM}$ , bei den Männern  $0,91 \pm 0,15 \text{ mM}$  (n.s., Frauen vs. Männer; Abb. 11C). Niedrige Tyramin-Dosen führten zu keinen Veränderungen, hohe Tyramin-Dosen dagegen zu einem Anstieg der Glucose-Konzentration bis auf  $1,22 \pm 0,17 \text{ mM}$  bei den Frauen bzw.  $1,18 \pm 0,18 \text{ mM}$  bei den Männern (jeweils  $p < 0,001$ , Tyramin vs. basal; n.s., Frauen vs. Männer). Die basale

Dialysat-Konzentration von Lactat war bei den Frauen  $0,25 \pm 0,05$  mM, bei den Männern  $0,29 \pm 0,04$  mM (n.s., Frauen vs. Männer, Abb. 11D). Sie stieg bereits unter niedrigen Tyramin-Dosen bei den Frauen auf  $0,37 \pm 0,06$  mM, bei den Männern auf  $0,43 \pm 0,06$  mM (jeweils  $p < 0,001$ , Tyramin vs. basal; n.s., Frauen vs. Männer). Unter höheren Tyramin-Dosen blieb die Lactat-Konzentrationen bei den Männern signifikant erhöht, bei den Frauen sanken sie wieder auf das Ausgangsniveau.

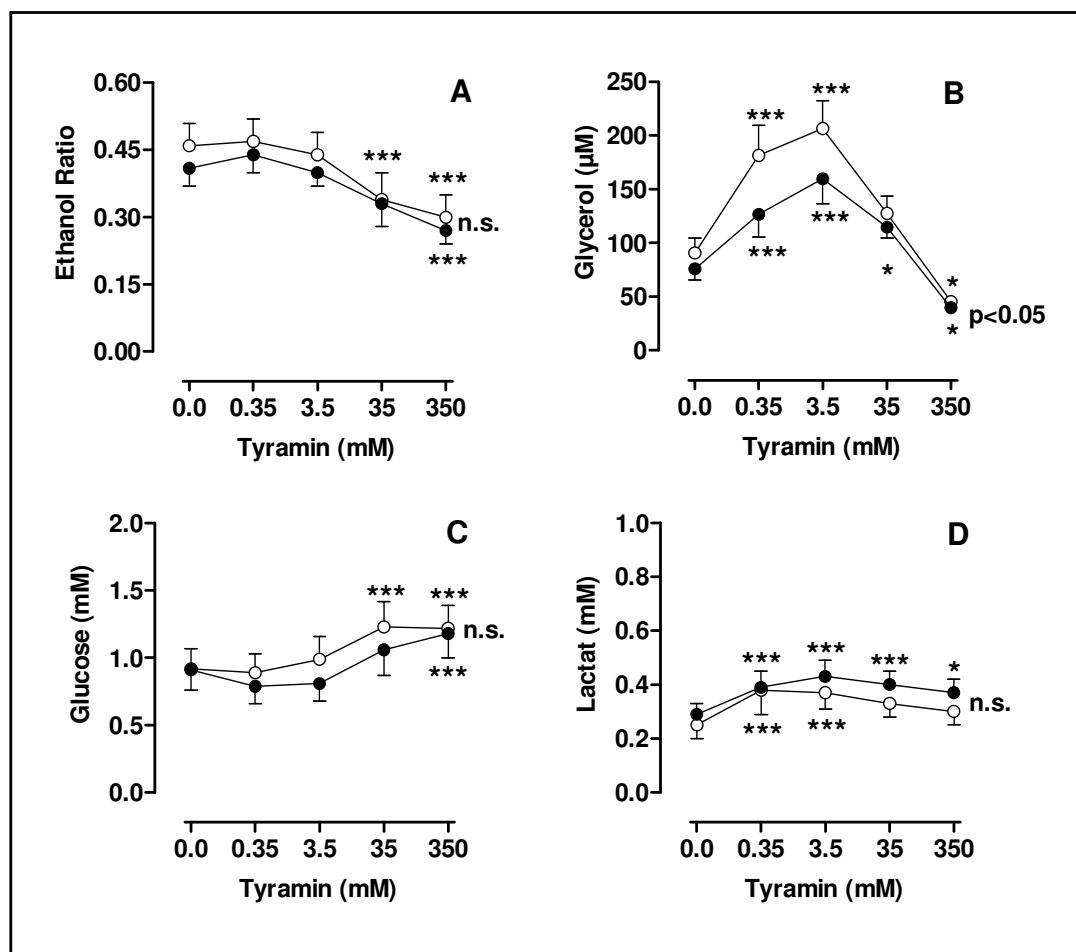


Abb. 11: Änderungen in der Ethanol Ratio (A), Glycerol- (B), Glucose- (C) und Lactat- (D) Konzentration im abdominalen subkutanen Fettgewebe von normalgewichtigen Frauen (○, n=12) und Männern (●, n=14) während der Perfusion mit steigenden Konzentrationen an Tyramin. Die Daten sind als Mittelwerte  $\pm$  SEM angegeben. (\*\*\*)  $p < 0.001$ , (\*)  $p < 0.05$ ; Tyramin vs. basal, One-way ANOVA und Dunnett's Multiple Comparison Test.

→ Durchblutung und Stoffwechsel zeigten unter Tyramin biphasische Veränderungen: niedrigere Tyramin-Dosen führten zu keinen Veränderungen der Ethanol-Ratio und der Glucose-Konzentration im Dialysat, wohl aber zu einer erhöhten Glycerol-Konzentration im Fettgewebe; höhere Tyramin-Dosen zu einem Absinken der Ethanol-Ratio und Anstieg der Glucose-Konzentration, jedoch einem Absinken der Glycerol-Konzentration noch unter das Ausgangsniveau. Zudem fiel der Anstieg der Glycerol-Konzentration unter den niedrigeren Tyramin-Dosen bei den Frauen höher aus als bei den Männern.

### 3.2.3 Wirkungen von Isoproterenol im Fettgewebe

*Durchblutung.* Die basale Ethanol Ratio betrug bei den Frauen  $0,46 \pm 0,06$ , bei den Männern  $0,44 \pm 0,06$  (n.s., Frauen vs. Männer; Abb. 12A). Bis zu einer Isoproterenol Konzentration von  $1 \mu\text{M}$  im Perfusat sank die Ethanol-Ratio dosis-abhängig bis auf  $0,29 \pm 0,05$  bei den Frauen ( $p < 0,001$ ,  $1 \mu\text{M}$  Isoproterenol vs. basal) bzw.  $0,36 \pm 0,05$  bei den Männern ( $p < 0,05$ ,  $1 \mu\text{M}$  Isoproterenol vs. basal). Eine Isoproterenol-Konzentration von  $10 \mu\text{M}$  führte zu keinen weiteren Veränderungen.

*Metabolite.* Die basale Glycerol-Konzentration im Dialysat lag bei  $86 \pm 17 \mu\text{M}$  bzw.  $82 \pm 18 \mu\text{M}$  bei den Frauen bzw. Männern (n.s., Frauen vs. Männer; Abb. 12B). Unter Isoproterenol stieg die Glycerol-Konzentration dosisabhängig an, erreichte unter der Dosis von  $1 \mu\text{M}$  ein Maximum von  $244 \pm 20 \mu\text{M}$  bei Frauen bzw.  $163 \pm 27 \mu\text{M}$  bei den Männern (jeweils  $p < 0,001$ , Isoproterenol vs. basal), fiel unter der höchsten Dosis von  $10 \mu\text{M}$  wieder ab, blieb aber signifikant über den Ausgangsniveau (Frauen:  $p < 0,001$ ; Männer:  $p < 0,05$ ; Isoproterenol vs. basal). Unter allen Isoproterenol-Dosen waren die Glycerol-Konzentration bei den Frauen signifikant höher als bei den Männern ( $p < 0,001$ ).

Die basale Glucose-Konzentration war bei den Frauen  $0,97 \pm 0,18 \text{ mM}$ , bei den Männern  $0,81 \pm 0,20 \text{ mM}$  (n.s., Frauen vs. Männer; Abb. 12C).



Steigende Dosen an Isoproterenol führten sowohl bei den Frauen als auch bei den Männern zu keinen signifikanten Veränderungen. Die basale Lactat-Konzentration betrug bei den Frauen  $0,43 \pm 0,09$  mM, bei den Männern  $0,30 \pm 0,06$  mM (n.s., Frauen vs. Männer; Abb. 12D). Unter Isoproterenol erhöhte sich die Lactat-Konzentration bis auf maximal  $0,68 \pm 0,11$  mM bei den Frauen bzw.  $0,61 \pm 0,14$  mM bei den Männern (jeweils  $p < 0,001$  1  $\mu$ M Isoproterenol vs. basal; n.s., Frauen vs. Männer).

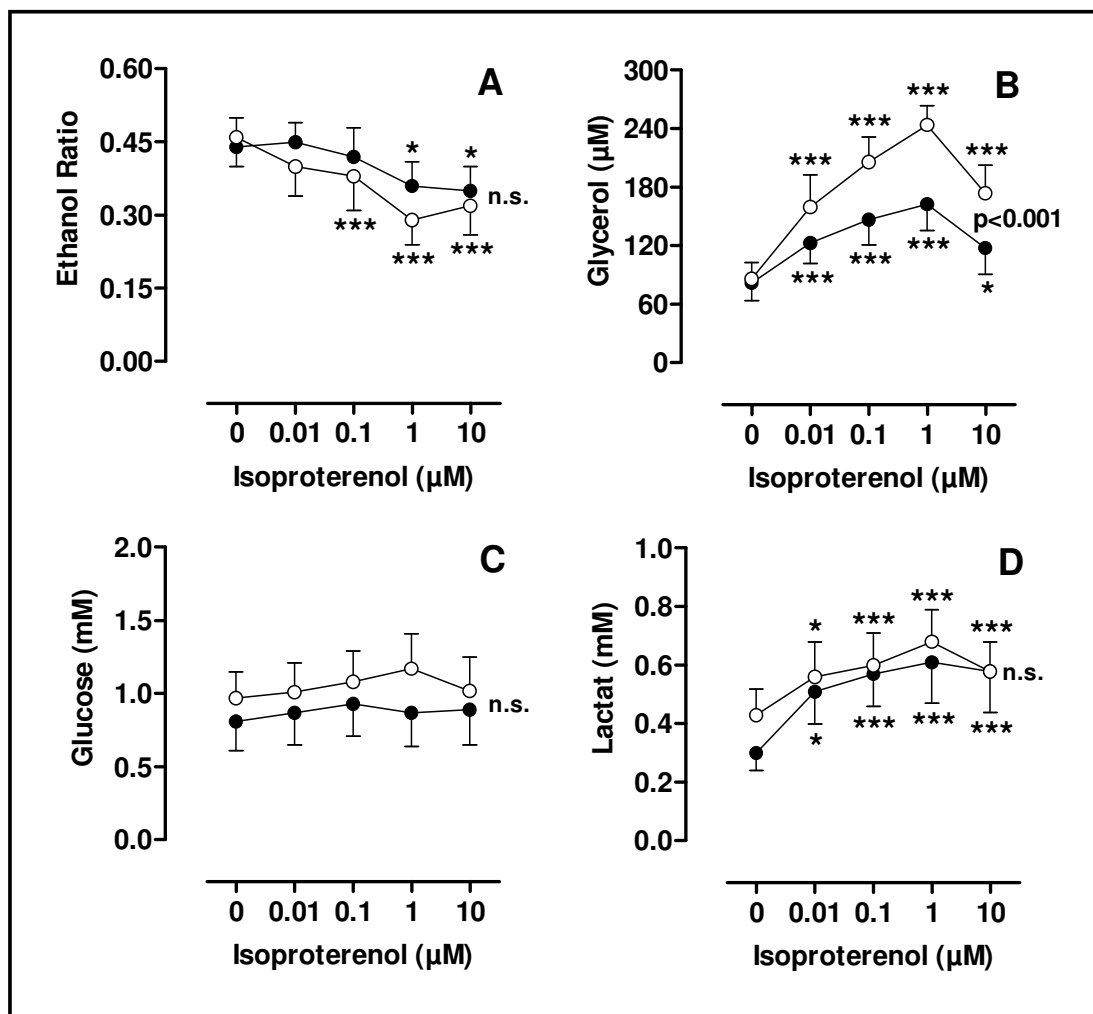


Abb. 12: Änderungen in der Ethanol Ratio (A), Glycerol- (B), Glucose- (C) und Lactat- (D) Dialysat-Konzentration im abdominalen subkutanen Fettgewebe von normalgewichtigen Frauen (○, n=8) und Männern (●, n=8) während der Perfusion mit steigenden Konzentrationen an Isoproterenol. Die Daten sind als Mittelwerte  $\pm$  SEM angegeben. \*)  $p < 0,05$ , \*\*\*)  $p < 0,001$ ; Isoproterenol vs. basal, One-way ANOVA und Dunnett's Multiple Comparison Test.

→ Isoproterenol führte in höheren Dosen zu einer Vasodilatation im Fettgewebe. Bis zu einer Isoproterenol-Konzentration von 1  $\mu\text{M}$  wurde die Lipolyse im Fettgewebe dosis-abhängig erhöht, ab 10  $\mu\text{M}$  Isoproterenol kam es jedoch zu keinen weiteren Änderungen. Die isoproterenol-stimulierte Lipolyse war im Fettgewebe der Frauen höher als bei den Männern.

### 3.2.4 Korrelation der Glycerol-Konzentrationen unter Tyramin- und Isoproterenol

Trägt man die unter der Perfusion mit 1  $\mu\text{M}$  Isoproterenol bzw. 3,5 mM Tyramin jeweils erreichten Glycerol-Konzentrationen beider Geschlechter gegeneinander auf, so ergibt sich zwischen diesen ein signifikanter linearer Zusammenhang ( $p=0,0159$ , Isoproterenol vs. Tyramin; Abb. 13).

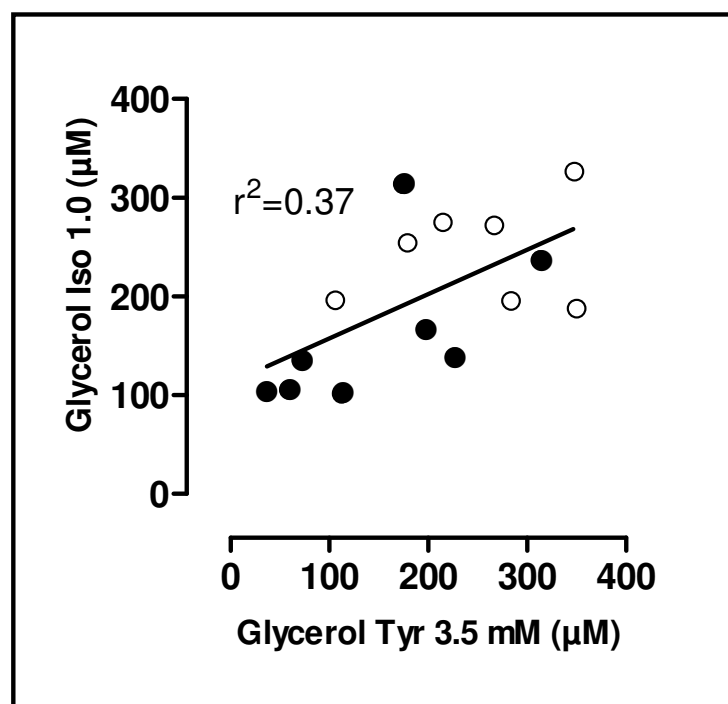


Abb. 13: Zusammenhang zwischen den jeweiligen Dialysat-Konzentrationen an Glycerol im subkutanen abdominalen Fettgewebe von normalgewichtigen Frauen ( $\circ$ ,  $n=7$ ) und Männern ( $\bullet$ ,  $n=8$ ) nach Perfusion mit 1,0  $\mu\text{M}$  Isoproterenol und 3,5 mM Tyramin. Die Daten sind als Einzelwerte angegeben. Statistische Analyse: lineare Regression (Pearson Korrelation).

### 3.2.5 Wirkungen von Dopamin im Fettgewebe

Die Wirkung von Dopamin auf Stoffwechsel und Durchblutung im Fettgewebe von je vier Frauen und Männern wurde geprüft, um auszuschließen, daß die Wirkungen von Tyramin auf eine Dopamin-Kontamination zurückzuführen sind (Abb. 14).

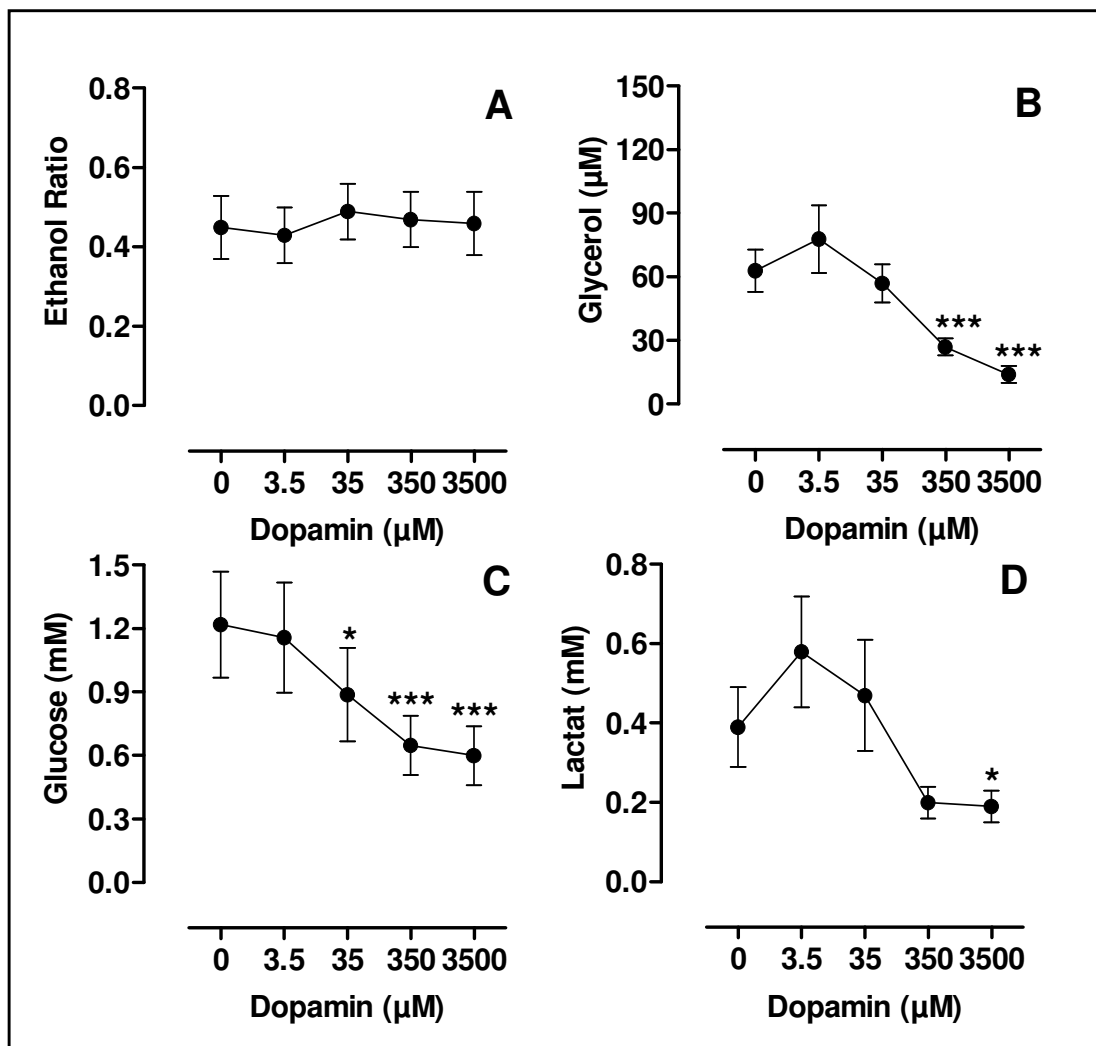


Abb. 14: Änderungen in der Ethanol Ratio (A), Glycerol- (B), Glucose- (C) und Lactat- (D) Dialysat-Konzentration im abdominalen subkutanen Fettgewebe von normalgewichtigen Frauen (n=4) und Männern (n=4) während der Perfusion mit steigenden Konzentrationen an Dopamin. Die Daten sind als Mittelwerte  $\pm$  SEM angegeben. \*)  $p < 0,05$ ; \*\*\*)  $p < 0,001$ ; Dopamin vs. basal, One-way ANOVA und Dunnett's Multiple Comparison Test.

*Durchblutung.* Die Perfusion mit steigenden Dopamin-Konzentrationen beeinflusste die basale Ethanol Ratio von  $0,45 \pm 0,08$  nicht (Abb. 14A).

*Metabolite.* Die basalen Glycerol-Konzentrationen von  $63 \pm 10 \mu\text{M}$  zeigten während der Perfusion mit niedrigeren Dopamin-Dosen (3,5 bis  $35 \mu\text{M}$ ) keine signifikanten Veränderungen (Abb. 14B), fielen aber während der Perfusion mit höheren Dopamin-Dosen dosis-abhängig deutlich unter die Ausgangskonzentration auf  $14 \pm 4 \mu\text{M}$  ab ( $p < 0,001$ ; Dopamin vs. basal).

Die Glucose-Konzentrationen fielen unter Dopamin dosis-abhängig von basal  $1,22 \pm 0,25 \text{ mM}$  auf  $0,60 \pm 0,14 \text{ mM}$  ( $p < 0,001$ ; 350 und  $3500 \mu\text{M}$  Dopamin vs. basal; Abb. 14C). Die basale Lactat-Konzentration von  $0,39 \pm 0,10 \text{ mM}$  blieb unter 3,5 und  $35 \mu\text{M}$  Dopamin unverändert, fiel aber unter 350 und  $3500 \mu\text{M}$  Dopamin deutlich unter das Ausgangsniveau auf  $0,19 \pm 0,04 \text{ mM}$  ( $p < 0,05$ ;  $3500 \mu\text{M}$  Dopamin vs. basal, Abb. 14D).

→ Dopamin beeinflusste die Durchblutung im Fettgewebe nicht. Während niedrige Dopamin-Dosen keine Effekte auf die Lipolyse zeigten, wirkte Dopamin in den höheren Konzentrationen deutlich anti-lipolytisch.

### 3.2.6 Wirkung von Tyramin unter $\beta$ -adrenerger Blockade

In dieser Teilstudie sollte geprüft werden, ob die tyramin-stimulierte Vasodilatation und Glycerol-Freisetzung unter  $\beta$ -Adrenozeptor-Blockade abgeschwächt werden kann.

*Durchblutung.* Die basale Ethanol Ratio betrug während der Perfusion mit dem  $\beta$ -Adrenozeptor-Blocker Propranolol  $0,49 \pm 0,06$ , ohne Propranolol (Kontrolle)  $0,51 \pm 0,06$  (n.s., Propranolol vs. Kontrolle; Abb. 15A). Unter 350 mM Tyramin sank die Ethanol Ratio ohne Propranolol auf  $0,30 \pm 0,05$ , mit Propranolol auf  $0,33 \pm 0,06$  (jeweils  $p < 0,001$ ; Tyramin vs. basal; n.s. +Propranolol vs. -Propranolol).

*Metabolite.* Die basale Glycerol-Dialysat-Konzentration lag mit Propranolol

bei  $75 \pm 12 \mu\text{M}$ , ohne Propranolol (Kontrolle) bei  $82 \pm 20 \mu\text{M}$  (n.s., +Propranolol vs. -Propranolol, Abb. 15B). Der bereits beschriebene tyramin-induzierte Anstieg in der Glycerol-Konzentration konnte durch Propranolol deutlich abgeschwächt werden. Die Glycerol-Konzentration lag unter 3,5 mM Tyramin und ohne Propranolol bei  $172 \pm 29 \mu\text{M}$ , mit Propranolol bei  $124 \pm 17 \mu\text{M}$  ( $p < 0,05$ , +Propranolol vs. -Propranolol). Unter 35 und 350 mM Tyramin hatte Propranolol keinen signifikanten Effekt auf die Glycerol-Konzentration.

Die tyramin-induzierten Veränderungen in den Glucose- und Lactat-Konzentrationen blieben durch Propranolol unbeeinflusst (Daten nicht gezeigt).

→ Die tyramin-induzierte Vasodilatation konnte durch eine  $\beta$ -Adrenozeptor-Blockade nicht beeinflusst werden. Dagegen wurde die tyramin-stimulierte Lipolyse unter  $\beta$ -Adrenozeptor-Blockade abgeschwächt.

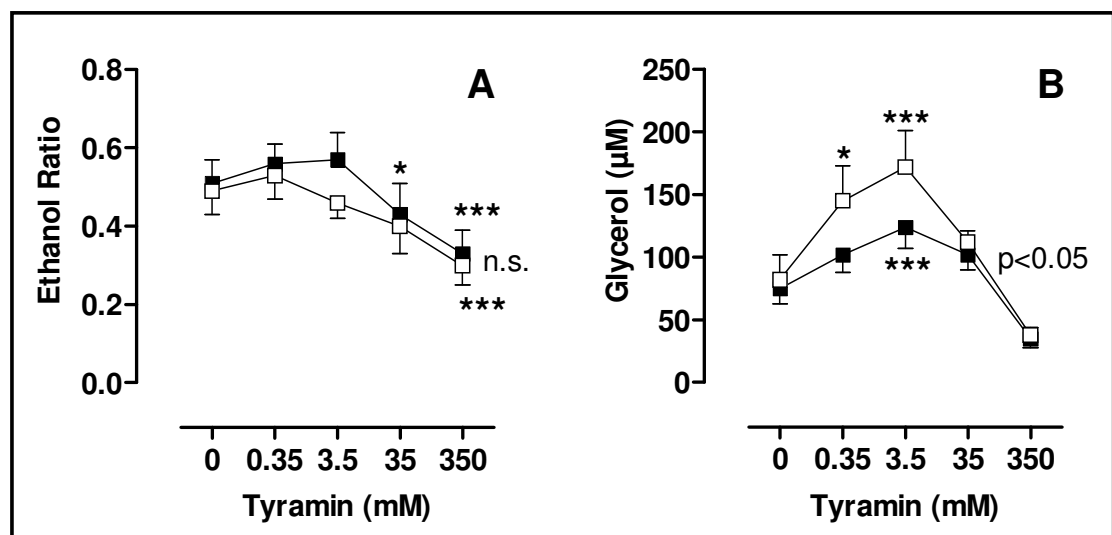


Abb. 15: Änderungen in der Ethanol Ratio (A) und der Glycerol-Konzentration (B) im abdominalen subkutanen Fettgewebe von normalgewichtigen Probanden ( $n=5$ ; 3 Frauen und 2 Männer) während der Perfusion mit steigenden Konzentrationen an Tyramin in An- (■) und Abwesenheit (□) von  $10 \mu\text{M}$  Propranolol. Die Daten sind als Mittelwerte  $\pm$  SEM angegeben, \*)  $p < 0.05$ , \*\*\*)  $p < 0.001$ ; Tyramin vs. basal, One-way ANOVA und Dunnett's Multiple Comparison Test. Propranolol vs. Kontrolle, Two-way ANOVA and Bonferroni's *post hoc* tests.

### 3.2.7 Wirkungen von Isoproterenol unter $\beta$ -adrenerger Blockade

Diese Teilstudie sollte die Effektivität der  $\beta$ -Adrenozeptor-Blockade im subkutanen Fettgewebe charakterisieren.

*Durchblutung.* Die basale Ethanol Ratio lag während der Perfusion mit dem  $\beta$ -Adrenozeptor-Blocker Propranolol bei  $0,49 \pm 0,13$ , ohne Propranolol (Kontrolle) bei  $0,45 \pm 0,09$  (n.s., +Propranolol vs. -Propranolol; Abb. 16A). Während der Perfusion mit steigenden Isoproterenol-Dosen sank die Ethanol Ratio ohne Propranolol auf  $0,28 \pm 0,10$ , mit Propranolol auf  $0,31 \pm 0,12$  (n.s., +Propranolol vs. -Propranolol).

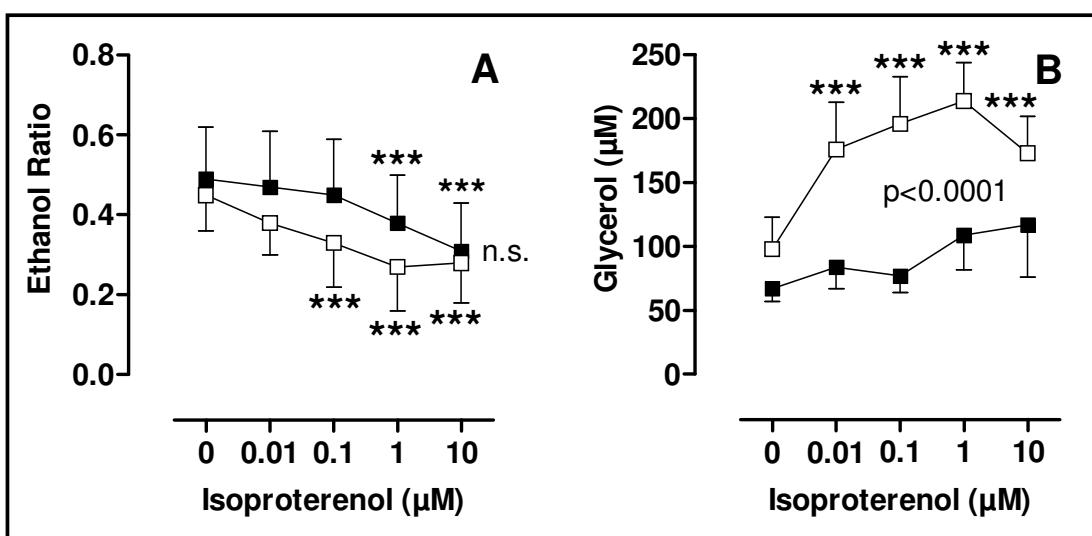


Abb. 16: Änderungen in der Ethanol Ratio (A) und der Glycerol-Konzentration (B) im abdominalen subkutanen Fettgewebe von normalgewichtigen Probanden (n=5; 3 Frauen und 2 Männern) während der Perfusion mit steigenden Konzentrationen an Isoproterenol in An- (■) und Abwesenheit (□) von 10 µM Propranolol. Die Daten sind als Mittelwerte  $\pm$  SEM angegeben, (\*\*\*)  $p < 0,001$ ; Isoproterenol vs. basal, One-way ANOVA und Dunnett's Multiple Comparison Test. Propranolol vs. Kontrolle, Two-way ANOVA and Bonferroni's *post hoc* tests.

*Metabolite.* Die basale Glycerol-Dialysat-Konzentration betrug unter Propranolol  $67 \pm 10$  µM, ohne Propranolol (Kontrolle)  $98 \pm 25$  µM (n.s., +Propranolol vs. -Propranolol; Abb. 16B). Isoproterenol steigerte in

Abwesenheit von Propranolol die Glycerol-Konzentration dosis-abhängig auf maximal  $214 \pm 30 \mu\text{M}$  ( $p < 0,001$ ;  $1 \mu\text{M}$  Isoproterenol vs. basal), während es in Anwesenheit von Propranolol zu keinem signifikanten Anstieg der Glycerol-Konzentration unter Isoproterenol kam. Die isoproterenol-induzierten Veränderungen in den Glucose- und Lactat-Konzentrationen blieben wurden durch Propranolol nicht beeinflusst (Daten nicht gezeigt).

→ Die isoproterenol-induzierte Vasodilatation wurde durch die  $\beta$ -Adrenozeptor-Blockade nicht signifikant beeinflusst. Die  $\beta$ -Adrenozeptor-Blockade bewirkte jedoch eine deutliche Verminderung der isoproterenol-stimulierten Lipolyse.

### 3.2.8 Wirkungen von Tyramin im Skelettmuskel

Zusätzlich zum Fettgewebe wurden vergleichende Untersuchungen am Skelettmuskel als Referenzgewebe durchgeführt. Hierbei liegen nur Daten von männlichen Probanden vor.

*Durchblutung.* Tyramin ( $3,5 \text{ mM}$ ) steigerte die Ethanol Ratio im Skelettmuskel von  $0,15 \pm 0,01$  (basal) auf  $0,19 \pm 0,02$  ( $p < 0,05$ , Tyramin vs. basal; Abb. 17A). Unter höheren Tyramin-Dosen fiel die Ethanol-Ratio wieder auf das Ausgangsniveau.

*Metabolite.* Bereits während der Perfusion mit der niedrigsten Tyramin-Dosis von  $0,35 \text{ mM}$  sank die Glycerol-Konzentration signifikant von  $52 \pm 5 \mu\text{M}$  (basal) auf  $40 \pm 4 \mu\text{M}$  ab ( $p < 0,05$ , Tyramin vs. basal; Abb. 17B) und blieb auf diesem Niveau auch unter den höheren Tyramin-Dosen.

Die Glucose-Konzentration fiel ab der Perfusion mit  $3,5 \text{ mM}$  Tyramin von  $1,70 \pm 0,07 \text{ mM}$  (basal) auf  $1,45 \pm 0,05 \text{ mM}$  ( $p < 0,05$ , Tyramin vs. basal; Abb. 17C), stieg unter den höheren Tyramin-Dosen jedoch wieder auf das Ausgangsniveau. Ab  $3,5 \text{ mM}$  Tyramin stieg die Lactat-Konzentration signifikant von basal  $1,09 \pm 0,08 \text{ mM}$  auf maximal  $2,00 \pm 0,18 \text{ mM}$  ( $p < 0,001$ , Tyramin vs. basal; Abb. 17D).

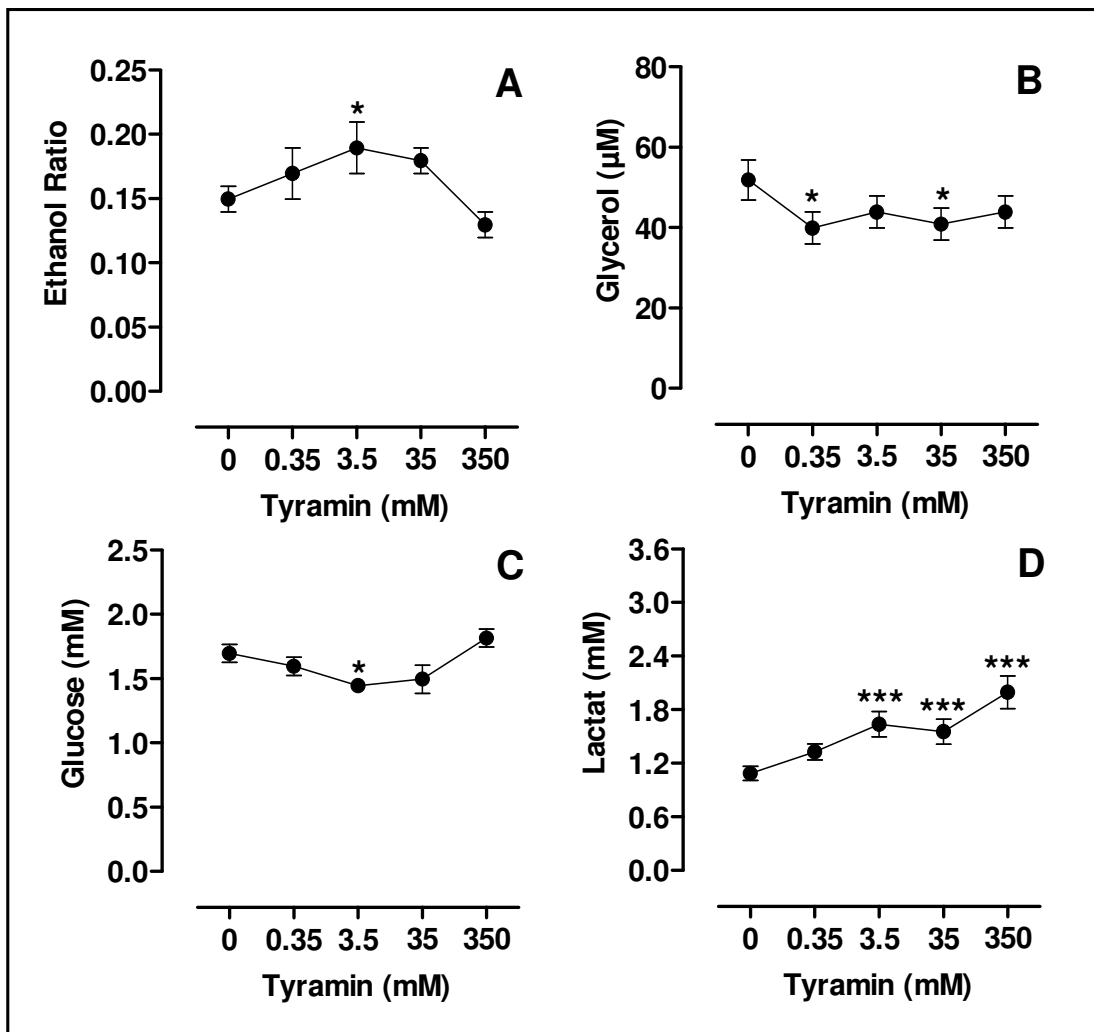


Abb. 17: Änderungen in der Ethanol Ratio (A), Glycerol- (B), Glucose- (C) und Lactat- (D) Dialysat-Konzentrationen im Skelettmuskel von normalgewichtigen Männern (n=8) während der Perfusion mit steigenden Konzentrationen an Tyramin. Die Daten sind als Mittelwerte  $\pm$  SEM angegeben, \*)  $p < 0,05$ ; \*\*\*)  $p < 0,001$ ; Tyramin vs. basal, One-way ANOVA and Dunnett's Multiple Comparison Test.

→ Im Skelettmuskel führten niedrige Tyramin-Dosen zu einer Vasokonstriktion, unter den höheren Tyramin-Konzentration stieg die Durchblutung wieder auf den Ausgangszustand an. Tyramin wirkte in der Skelettmuskulatur anti-lipolytisch.



### 3.2.9 Wirkungen von Isoproterenol im Skelettmuskel

*Durchblutung.* Während der Perfusion mit Isoproterenol sank die Ethanol Ratio im Skelettmuskel dosis-abhängig von basal  $0,14 \pm 0,01$  auf  $0,08 \pm 0,01$  ( $p < 0,001$ , Isoproterenol vs. basal; Abb. 18A).

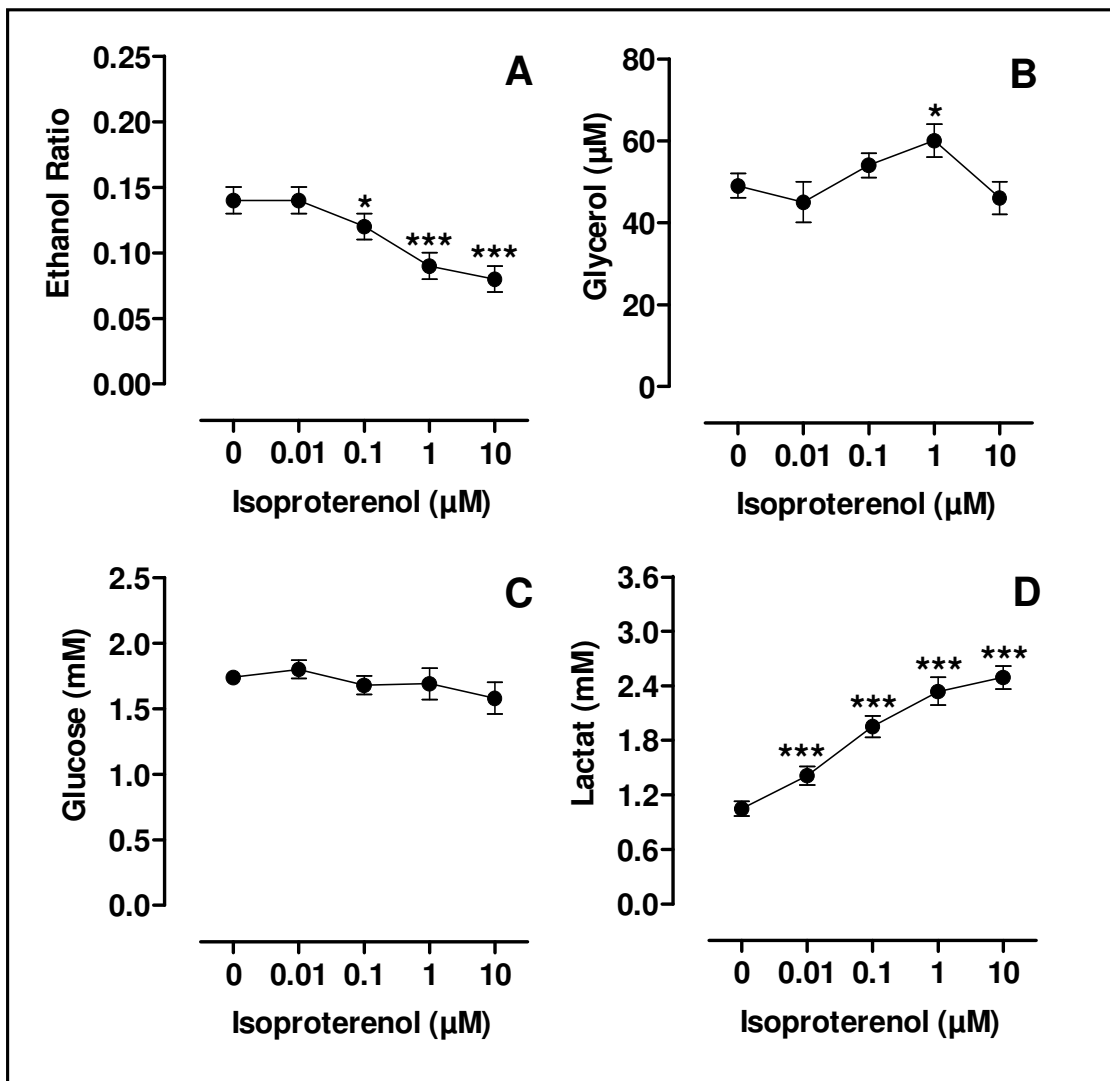


Abb. 18: Änderungen in der Ethanol Ratio (A), Glycerol- (B), Glucose- (C) und Lactat- (D) Dialysat-Konzentration im Skelettmuskel von normalgewichtigen Männern (n=8) während der Perfusion mit steigenden Konzentrationen an Isoproterenol. Die Daten sind als Mittelwerte  $\pm$  SEM angegeben., \*)  $p < 0,05$ , \*\*\*)  $p < 0,001$ ; Isoproterenol vs. basal, One-way ANOVA und Dunnett's Multiple Comparison Test.

*Metabolite.* Niedrige Isoproterenol-Dosen (0,01 und 0,1  $\mu\text{M}$ ) ließen die basale Glycerol-Konzentration unbeeinflusst (Abb. 18B). Unter 1  $\mu\text{M}$  Isoproterenol erhöhte sich die Glycerol-Konzentration signifikant von  $49 \pm 3 \mu\text{M}$  (basal) auf  $60 \pm 4 \mu\text{M}$  ( $p < 0,05$ ; Isoproterenol vs. basal), fiel dann aber unter 10  $\mu\text{M}$  Isoproterenol wieder auf das Ausgangsniveau zurück.

Unter Isoproterenol zeigte die Glucose-Konzentration keine signifikanten Veränderungen (basal:  $1,74 \pm 0,05 \text{ mM}$ ; Abb. 18C). Die Lactat-Konzentration stieg unter Isoproterenol dosis-abhängig von  $1,05 \pm 0,08 \text{ mM}$  (basal) auf einen Maximalwert von  $2,49 \pm 0,13 \text{ mM}$  an ( $p < 0,001$ ; Isoproterenol vs. basal; Abb. 18 D).

→ Isoproterenol führte in der Skelettmuskulatur zu einer Vasodilatation. Unter 1  $\mu\text{M}$  Isoproterenol kam es zu einem signifikanten Anstieg der lipolytischen Aktivität in der Skelettmuskulatur.

### 3.3 Humorale Kontrolle

#### 3.3.1 Wirkungen von Angiotensin II im Fettgewebe

*Durchblutung.* Die basale Ethanol Ratio war bei den Frauen ( $0,21 \pm 0,04$ ) im Vergleich zu den Männern ( $0,30 \pm 0,03$ ) signifikant höher ( $p < 0,05$ , Abb. 19A). Bei den Männern änderte sich die Ethanol Ratio während der Perfusion mit steigenden Angiotensin II-Dosen nicht. Im Gegensatz dazu erhöhte sich die Ethanol Ratio bei den Frauen unter Angiotensin II auf maximal  $0,25 \pm 0,04$  erhöht ( $p < 0,05$ ; Angiotensin II vs. basal).

*Metabolite.* Die basale Glycerol-Konzentration im Dialysat unterschied sich zwischen Frauen ( $123 \pm 15 \mu\text{M}$ ) und Männern ( $100 \pm 12 \mu\text{M}$ ) nicht signifikant (Abb. 19B) und blieb bei beiden auch während der Perfusion mit steigenden Angiotensin II-Dosen unverändert.

Die basale Glucose-Konzentration war bei den Frauen ( $1,37 \pm 0,31 \text{ mM}$ ) verglichen mit den Männern ( $0,98 \pm 0,14 \text{ mM}$ ) signifikant höher ( $p < 0,05$ , Abb. 19C). Während bei den Männern die Glucose-Konzentration unter Angiotensin II unverändert blieb, fiel sie bei den Frauen deutlich auf  $0,93 \pm 0,21 \text{ mM}$  ( $p < 0,05$ ; Angiotensin II vs. basal). Die basale Lactat- Konzentration war bei den Frauen ( $0,35 \pm 0,07 \text{ mM}$ ) im Vergleich zu den Männern ( $0,56 \pm 0,15 \text{ mM}$ ) signifikant niedriger ( $p < 0,05$ , Abb. 19D). Bei Frauen stieg die Lactat- Konzentration unter Angiotensin II auf  $0,44 \pm 0,10 \text{ mM}$  an ( $p < 0,05$ ; Angiotensin II vs. basal), bei den Männern blieb sie dagegen unter Angiotensin II unverändert.

→ Die basale Durchblutung im Fettgewebe der Frauen lag basal höher als die der Männern. Im Fettgewebe der Männer wurden Durchblutung und Lipolyse nicht durch Angiotensin II beeinflusst. Dagegen verminderte Angiotensin II die Durchblutung und nutritive Versorgung im Fettgewebe der Frauen.

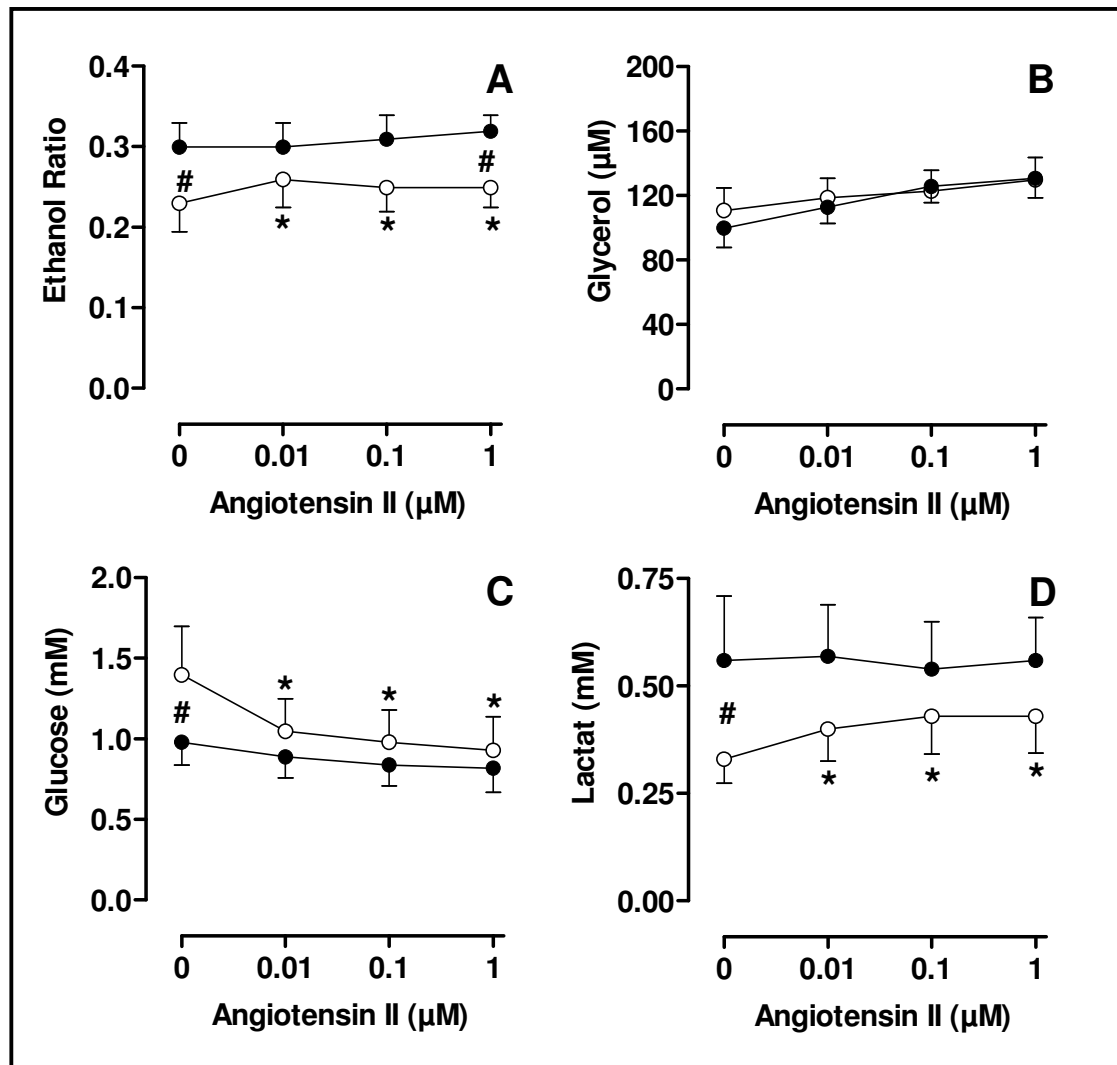


Abb. 19: Änderungen in der Ethanol Ratio (A), Glycerol- (B), Glucose- (C) und Lactat- (D) Dialysat-Konzentrationen im abdominalen subkutanen Fettgewebe von normalgewichtigen Frauen (○, n=8) und Männern (●, n=8) während der Perfusion mit steigenden Konzentrationen an Angiotensin II. Die Daten sind als Mittelwerte  $\pm$  SEM angegeben. \*)  $p < 0.05$ ; Angiotensin II vs. basal, One-way ANOVA und Dunnett's Multiple Comparison Test; #) Frauen vs. Männer Two-way ANOVA.

### 3.3.2 Wirkungen von Angiotensin II im Skelettmuskel

Zusätzlich zum Fettgewebe wurden vergleichende Untersuchungen am Skelettmuskel als Referenzgewebe durchgeführt. Hierbei liegen nur Daten von männlichen Probanden vor.

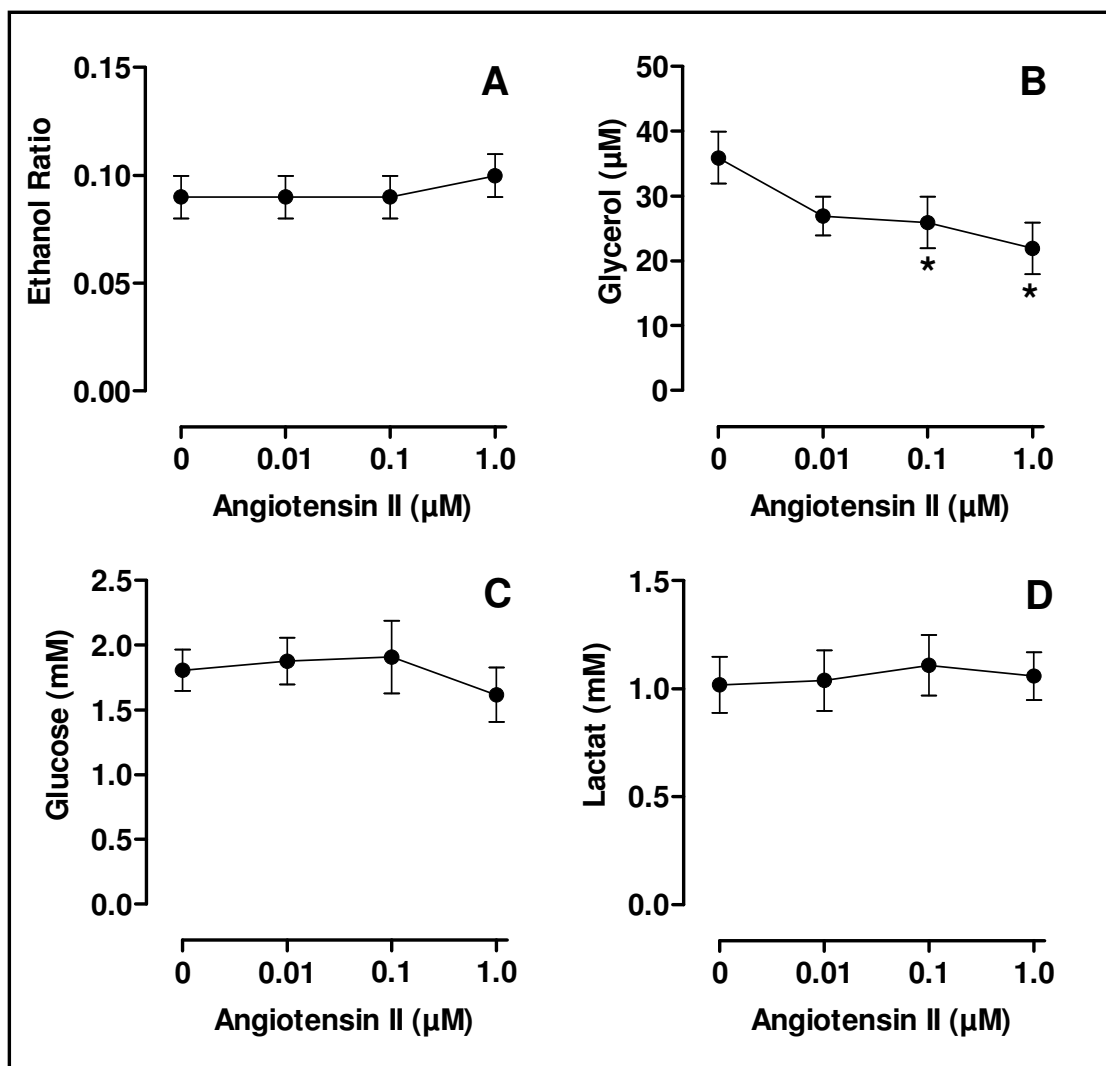


Abb. 20: Änderungen in der Ethanol Ratio (A), Glycerol- (B), Glucose- (C) und Lactat- (D) Dialysat-Konzentration im Skelettmuskel von normalgewichtigen Männern ( $n=8$ ) während der Perfusion mit steigenden Konzentrationen an Angiotensin II. Die Daten sind als Mittelwerte  $\pm$  SEM angegeben. \*)  $p<0,05$ ; Angiotensin II vs. basal, One-way ANOVA und Dunnett's Multiple Comparison Test.

*Durchblutung.* Die basale Ethanol Ratio betrug  $0,09 \pm 0,01$  und blieb unter steigenden Angiotensin II - Konzentrationen unverändert (Abb. 20A).

*Metabolite.* Die basale Glycerol-Konzentration lag bei  $36 \pm 4 \mu$  (Abb. 20B). Angiotensin II verminderte die Glycerol-Konzentration dosisabhängig auf  $22 \pm 4 \mu\text{M}$  ( $p<0,05$ ; Angiotensin II vs. basal).

Die basale Glucose-Konzentration lag bei  $1,81 \pm 0,16$  mM (Abb. 20C), die basale Lactat-Konzentration bei  $1,02 \pm 0,13$  mM (Abb. 20D). Unter  $1 \mu\text{M}$  Angiotensin II fiel die Glucose-Konzentration auf  $1,62 \pm 0,21$  mM (n.s.), während die Lactat-Konzentrationen unter Angiotensin II unverändert blieben.

→ Im Skelettmuskel inhibierte Angiotensin II die Lipolyse direkt, die Durchblutung änderte sich unter Angiotensin II dagegen nicht.

### 3.4 Einfluß der Hautfaltendicke auf Durchblutung und Stoffwechsel des subkutanen abdominalen Fettgewebes

#### 3.4.1 BMI und Hautfaltendicken der untersuchten Probanden

Zwischen den Probanden lagen keine geschlechtsspezifischen Unterschiede hinsichtlich BMI (Frauen:  $21,0 \pm 0,4 \text{ kg/m}^2$ ; Männer:  $22,0 \pm 0,8 \text{ kg/m}^2$ ) und Hautfaltendicke vor. Die Hautfaltendicke lag bei den Frauen zwischen 8 und 32 mm (Abb. 21A), bei den Männern zwischen 15 und 40 mm (Abb. 21B). Im Durchschnitt lagen sie bei den Frauen bei  $21 \pm 4 \text{ mm}$ , bei den Männern bei  $27 \pm 4 \text{ mm}$  ( $p=0,217$ , Frauen vs. Männer).

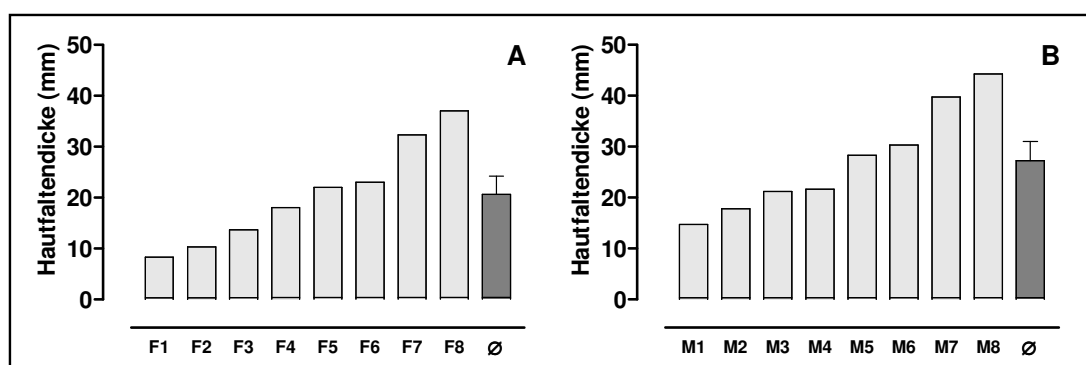


Abb. 21: Hautfaltendicken der untersuchten Frauen (A) und Männer (B). Die Daten sind als Einzelwerte (F1 bis F8 und M1 bis M8) bzw. als Mittelwerte (Ø)  $\pm$  SEM dargestellt. Frauen vs. Männer, Student'schen t-Tests für ungepaarte Stichproben.

#### 3.4.2 Einfluß der Hautfaltendicke auf Durchblutung und Stoffwechsel unter Basalbedingungen

*Durchblutung.* Die Ethanol Ratio lag bei den Frauen zwischen 0,25 und 0,75, bei den Männern zwischen 0,19 und 0,63 (Abb. 22A). Die Ethanol Ratio korrelierte für Beide jeweils positiv linear (Frauen  $p=0,0018$ , Männer  $p=0,0425$ ), die dazu gehörige Harnstoff-Konzentration jeweils negativ linear (Frauen  $p=0,0044$ , Männer  $p=0,0017$ ) mit den korrespondierenden Hautfaltendicken der; Abb. 22B).

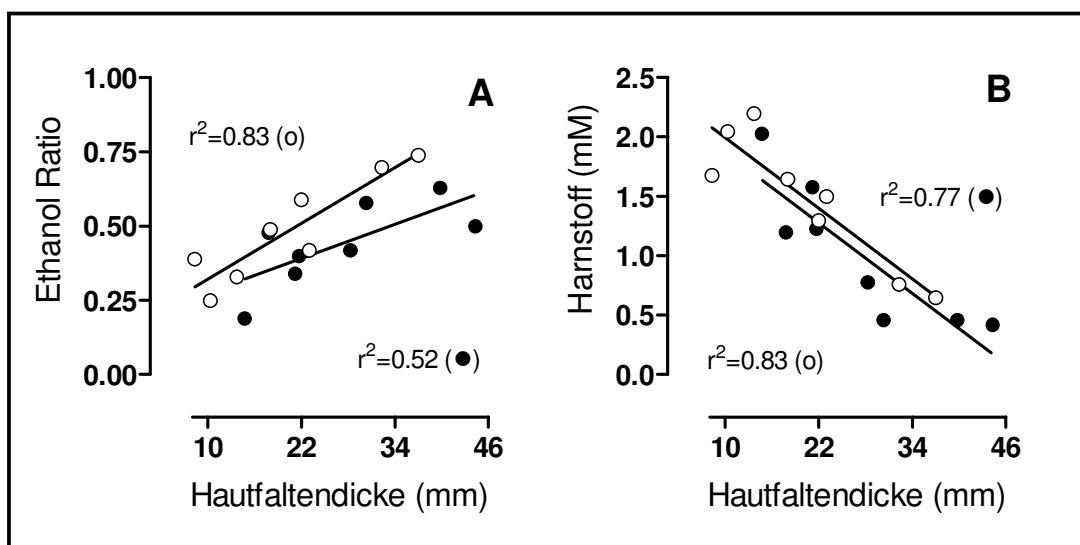


Abb. 22: Zusammenhang zwischen Ethanol Ratio (A) sowie der Harnstoff-Konzentration (B) im Dialysat und der Hautfaltendicke im subkutanen abdominalen Fettgewebe von normalgewichtigen Frauen (○, n=8) und Männern (●, n=8). Die Daten sind als Einzelwerte angegeben. Statistische Analyse: lineare Regression (Pearson Korrelation).

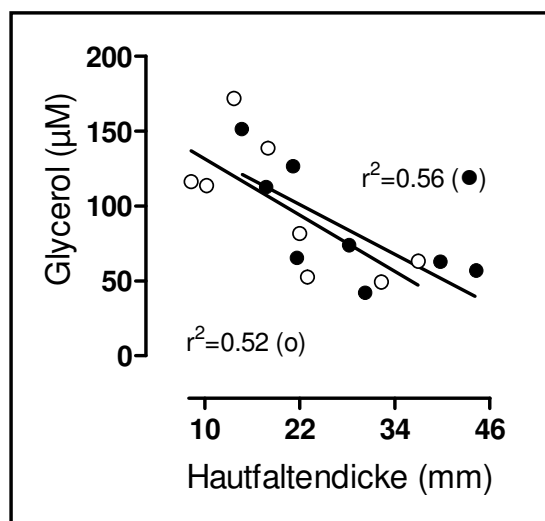


Abb. 23: Zusammenhang zwischen der Glycerol-Dialysat-Konzentration und der Hautfaltendicke im subkutanen abdominalen Fettgewebe von normalgewichtigen Frauen (○, n=8) und Männern (●, n=8). Statistische Analyse: lineare Regression (Pearson Korrelation).



*Metabolite.* Die Glycerol-Konzentration im Dialysat lag zwischen 49 und 172  $\mu\text{M}$  bei den Frauen und zwischen 42 und 152  $\mu\text{M}$  bei den Männern (Abb.23). Sie korrelierte sowohl im Fettgewebe der Frauen ( $p=0,0320$ ) als auch der Männern ( $p=0,024$ ) positiv linear mit der korrespondierenden Hautfaltendicke.

Die Glucose-Konzentration reichte von 0,29 bis 1,68 mM bei den Frauen und von 0,24 bis 1,95 mM bei den Männern (Abb. 24A). Auch sie korrelierte sowohl im Fettgewebe der Frauen ( $p=0,0181$ ) als auch der Männer ( $p=0,0006$ ) positiv linear mit der korrespondierenden Hautfaltendicke. Die Lactat-Konzentration lag bei den Frauen zwischen 0,12 bis 0,70, bei den Männern zwischen 0,09 bis 0,46 (Abb. 24B). Die Lactat-Konzentration tendierte bei den Frauen ( $p=0,0501$ ) wie auch bei den Männern ( $p=0,0672$ ) zu einem positiv linearen Zusammenhang mit der Hautfaltendicke.

→ Basale Durchblutung, Glucoseversorgung und Lipolyse korrelierten im Fettgewebe unabhängig vom Geschlecht negativ mit der Hautfaltendicke.

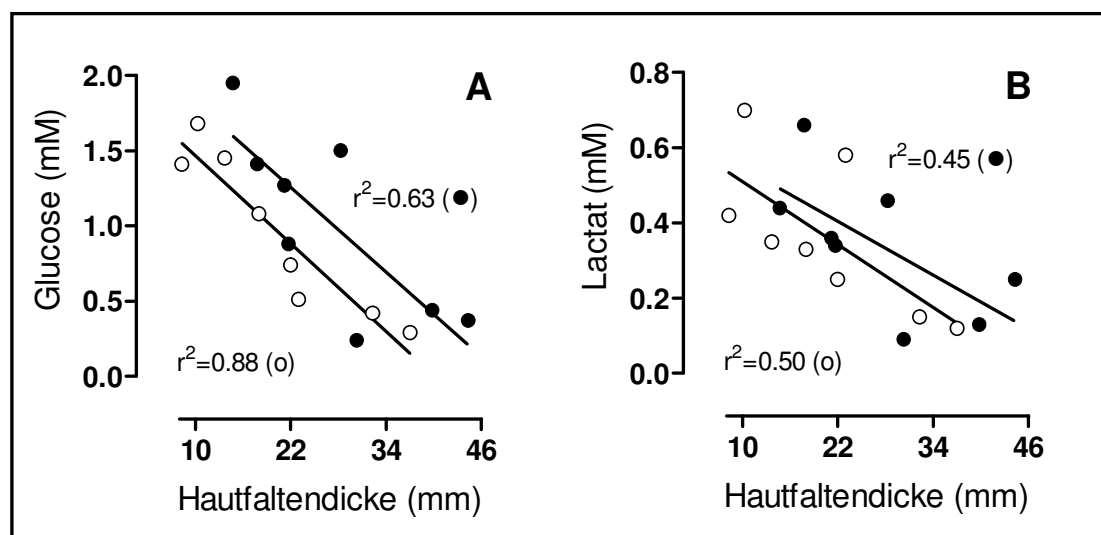


Abb. 24: Zusammenhang zwischen Glucose- (A) und Lactat- (B) Dialysat-Konzentration und der Hautfaltendicke im subkutanen abdominalen Fettgewebe von normalgewichtigen Frauen ( $\circ$ ,  $n=8$ ) und Männern ( $\bullet$ ,  $n=8$ ). Statistische Analyse: lineare Regression (Pearson Korrelation).

### 3.4.3 Einfluß der Hautfaltendicke auf Durchblutung und Stoffwechsel unter stimulierten Bedingungen

*Durchblutung.* Die während der Perfusion des Fettgewebes mit Isoproterenol erzielte Ethanol Ratio korrelierte positiv linear mit der jeweils korrespondierenden Hautfaltendicke ( $p=0,0238$  für die Frauen,  $p=0,0491$  für die Männer, Abb. 25A).

*Metabolite.* Die unter Isoproterenol erzielte Glycerol-Konzentration im Dialysat zeigte keine Korrelation mit der Hautfaltendicke (Daten nicht gezeigt). Dagegen korrelierte die unter Isoproterenol erzielte Glucose-Konzentration bei den Frauen signifikant umgekehrt proportional mit der Hautfaltendicke ( $p=0,0409$ ), bei den Männern gab es zumindest ein Trend ( $p=0,0578$ , Abb. 25B). Die Lactat-Konzentration zeigte unter Isoproterenol keine Korrelation mit der Hautfaltendicke (Daten nicht gezeigt).

→ Die adrenerg stimulierte Durchblutung und Glucoseversorgung des Fettgewebes korrelierte bei den Frauen negativ linear mit der Hautfaltendicke.

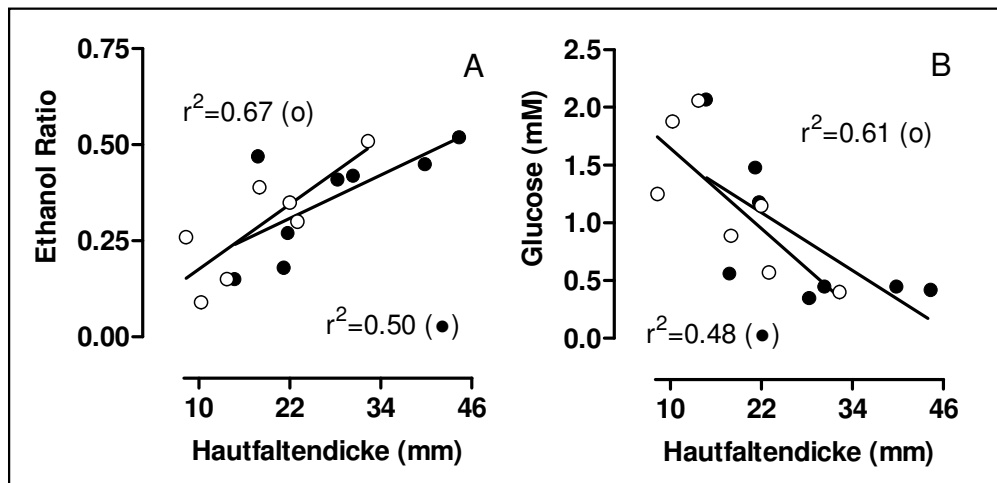


Abb. 25: Zusammenhang zwischen der Ethanol Ratio (A) sowie der Glucose-Konzentration im Dialysat (B) und der Hautfaltendicke im subkutanen abdominalen Fettgewebe von normalgewichtigen Frauen ( $\circ$ ,  $n=7$ ) und Männern ( $\bullet$ ,  $n=8$ ) während der Perfusion mit  $1,0 \mu\text{M}$  Isoproterenol. Statistische Analyse: lineare Regression (Pearson Korrelation).

## 4 Diskussion

### 4.1 Neuro-hormonale Regulation

Ziel dieser Teilstudie war zu prüfen, ob der Noradrenalin-Transporter die Regulation von Durchblutung und Stoffwechsel in ausgewählten Organen beeinflusst. Dabei lag der Fokus auf dem weißen Fettgewebe als primär energie- (fett-) speicherndem bzw. dem Skelettmuskel als primär energie- (fett-) verbrauchendem Referenzorgan. Zusätzlich sollte geprüft werden, ob der Einfluß der lokalen neuronalen Noradrenalinfreisetzung auf Durchblutung und Stoffwechsel in diesen Organen geschlechtsspezifische Unterschiede aufweist. Die Funktion des Noradrenalin-Transporters wurde indirekt mittels Tyramin getestet und mit der Wirkung von Isoproterenol, einem direkten  $\beta$ -Adrenozeptor-Agonisten, verglichen.

Tyramin fördert die Freisetzung von Noradrenalin aus den endogenen Speichern der präsynaptischen Neuronen (13). Tierexperimentell führte mittels Mikrodialyse lokal appliziertes Tyramin zu einem 10-fachen Anstieg der interstitiellen Noradrenalin-Konzentration im Fettgewebe und im Skelettmuskel, die arterielle Noradrenalin-Konzentration blieb jedoch unbeeinflusst (64). Mit diesem Versuchsansatz wurde beispielsweise eine erhöhte noradrenerge Aktivität im weißen Fettgewebe von spontan hypertensiven Ratten im Vergleich zu Kontrolltieren nachgewiesen (93). Bislang liegen keine klinische Daten mit diesem Ansatz vor.

Zunächst wurde geprüft, ob Tyramin postsynaptisch die Glycerolfreisetzung induziert. Dazu wurden Tyramin-Inkubationen mit humanen Adipocyten durchgeführt, die aus dem Brustfettgewebe von Frauen isoliert wurden. Die lipolytische Sensitivität gegenüber Noradrenalin unterscheidet sich bei prämenopausalen Frauen nicht zwischen abdominalen und Brustfettgewebe (85). In der vorliegenden Studie zeigte Tyramin in Konzentrationen von 3,5 und 35 mM keinen Einfluß auf die Lipolyse der isolierten humanen Adipocyten. Dagegen kam es unter 1  $\mu$ M Isoproterenol zu einem sehr deutlichen Anstieg der Lipolyse in diesen Zellen. Auch bei isolierten

Rattenadipocyten hatte Tyramin (10  $\mu$ M und 1 mM) keinen Effekt auf die basale Lipolyse (94). Daher sind die Änderungen in der Glycerolkonzentration in den Mikrodialysaten auf eine induzierte Noradrenalin-Freisetzung zurückzuführen. Daraus folgt wiederum, daß die lokale neuronale Noradrenalinfreisetzung an der Regulation des Fettgewebsstoffwechsels beteiligt ist.

Niedrigere Tyramin-Konzentrationen (0,35 bis 3,5 mM) steigerten im Fettgewebe die Lipolyse. Im Fettgewebe führt eine Aktivierung aller drei  $\beta$ -Adrenozeptor-Subtypen ( $\beta_{1,2,3}$ ) zu einer erhöhten Lipolyse (95). Noradrenalin bindet an den  $\beta_1$ - und mit geringerer Affinität an den  $\beta_2$ -Adrenozeptor (13). Die tyramin-stimulierte Lipolyse sollte daher die Folge von freigesetztem Noradrenalin sein (95,96). Im humanen Fettgewebe konnte gezeigt werden, daß Noradrenalin die Lipolyse zunächst auf ein „Peak“-Niveau anhebt, gefolgt von einem Absinken der Lipolyse auf das basale Ausgangsniveau (96). Dieser Effekt wurde auf eine Tachyphylaxie zurückgeführt, d.h. die Wirkung des Pharmakons ließ sich auch durch eine gesteigerte Dosis nicht weiter erhöhen. So sank auch in der vorliegenden Arbeit ab einer Tyramin-Konzentration von 35 mM die Lipolyse wieder ab. Bei der höchsten Tyramin-Konzentration von 350 mM verminderte sich die lipolytische Aktivität sogar unter das Ausgangsniveau. Dieser Effekt wurde auch *in-vitro* beobachtet und ist daher vermutlich auf eine dopamin-induzierte Aktivierung von postsynaptischen anti-lipolytischen  $\alpha_2$ -Adrenozeptoren zurückzuführen (97, 71,63). Hierauf wird im späteren Teil der Diskussion dieser Teilstudie noch einmal ausführlich eingegangen.

Isoproterenol steigerte die Glycerol-Konzentration und damit Lipolyse im Fettgewebe, wobei unter 1  $\mu$ M Isoproterenol der größte Effekt erzielt wurde. Dieser Effekt ist bereits aus verschiedenen Studien bekannt (65, 98, 99). Die höchste verwendete Isoproterenol-Dosis von 10  $\mu$ M führte zu keiner weiteren Steigerung der Lipolyse, d.h. zu einer Tachyphylaxie. Dieser Effekt ist im Fettgewebe auf eine Desensibilisierung des  $\beta_1$ -AR-Subtyps gegenüber dem Agonisten zurückzuführen (96).

Tyramin wirkte in der Skelettmuskulatur im Gegensatz zum Fettgewebe anti-lipolytisch. Im Skelettmuskel ist jedoch, anders als im Fettgewebe, nur der  $\beta_2$ -Adrenozeptor-Subtyp an der Regulation der Lipolyse beteiligt (8). Eine Aktivierung von  $\alpha_2$ -Adrenozeptoren führt im Fettgewebe zu einer Hemmung der Lipolyse und zu Vasokonstriktion (97). Ob eine derartige Wirkung von  $\alpha_2$ -Adrenozeptoren auch im Skelettmuskel existiert, ist derzeit noch unklar. Niedrige Tyramin-Dosen scheinen aber im Skelettmuskel eher  $\alpha_2$ -Adrenozeptoren zu aktivieren und damit die Lipolyse zu hemmen. Dieses Ergebnis ist im Einklang mit einer neueren Studie zur unterschiedlichen adrenergen Regulation in Fettgewebe und Skelettmuskulatur (100). Diese Untersuchung zeigt, daß die lipolytische Sensitivität gegenüber Noradrenalin im Fettgewebe 100mal höher als im Skelettmuskel ist. Vermutlich ist im Skelettmuskel das aus der Zirkulation stammende Adrenalin für die Regulation der Lipolyse bedeutsamer als im Fettgewebe. Gestützt wird diese Vermutung dadurch, daß Adrenalin im Vergleich zum Noradrenalin eine hohe Affinität zu den  $\beta_2$ -Adrenozeptoren hat (13).

Die Durchblutung änderte sich im Fettgewebe bei Perfusion mit niedrigen Tyramin-Konzentrationen nicht signifikant. Dies könnte auf die ohnehin schon niedrige basale Durchblutung im Fettgewebe zurückzuführen sein. So konnte die Durchblutung ebenfalls nicht durch Vasokonstriktoren wie Adrenalin oder Phenylephrin vermindert werden (65,99). Noradrenalin zeigte in einer Mikrodialysestudie erst ab einer Konzentration von 10  $\mu$ M einen vasokonstriktorischen Effekt im Fettgewebe, in anderen Studien an Normalgewichtigen wie auch Adipösen blieb die Durchblutung unter lokaler Noradrenalin-Applikation unverändert (101,102, Bolinder et al., unveröffentlicht). Die Perfusion mit dem unspezifischen  $\beta$ -Adrenozeptor-Agonisten Isoproterenol führte im Fettgewebe hingegen zu einer vasodilatatorischen Antwort, wie auch in früheren Mikrodialyse-Studien beobachtet wurde (65,98,99).

In der Skelettmuskulatur wirkte Tyramin im Gegensatz zum Fettgewebe zumindest in den geringeren Konzentrationen vasokonstriktorisch. Dieses

Ergebnis steht in Übereinstimmung mit einer anderen Mikrodialysestudie, in der Noradrenalin lokal in den Skelettmuskel perfundiert wurde und es zu einer deutlichen Verminderung der Durchblutung kam (100). Eine Erklärung für die gewebespezifische hämodynamische Antwort niedriger Tyramin-Dosen könnte in der unterschiedlichen Wirkung von Noradrenalin in Fettgewebe und Skelettmuskulatur zu finden sein. Im humanen Skelettmuskel sind ausschließlich  $\beta_2$ -Adrenozeptoren in die Stimulation der Vasodilatation involviert, im Fettgewebe ist aber zusätzlich der  $\beta_1$ -Adrenozeptor beteiligt (8,17). Noradrenalin besitzt jedoch eine hohe Affinität zu  $\alpha$ - und  $\beta_1$ -, aber eine nur schwache zu  $\beta_2$ -Adrenozeptoren (13). Die tyramin-induzierte Vasokonstriktion im Skelettmuskel wird somit vermutlich durch die Freisetzung von Noradrenalin und nachfolgender Aktivierung vaskulärer  $\alpha$ -Adrenozeptoren verursacht. Die Perfusion mit Isoproterenol führte wie im Fettgewebe auch im Skelettmuskel zu einer Vasodilatation.

Die Perfusion mit höheren Tyramin-Konzentrationen (35 und 350 mM) verursachten im Fettgewebe paradoxerweise eine Vasodilatation. Ein vasodilatatorischer Effekt von Tyramin wurde auch im Unterarm des Menschen gefunden, wenn Tyramin intravenös infundiert wurde (103). Für die Versuche wurde jedoch Tyramin eingesetzt, das mit Dopamin kontaminiert war. Wurde lyophilisiertes Tyramin verwendet, betrug die Dopamin-Kontamination des Tyramins anstatt 1% weniger als 0,01% und der vasodilatatorische Effekt zeigte sich nicht (63). In der vorliegenden Arbeit wurde das lyophilisierte Tyramin kurz vor Beginn des Versuches mit Ringerlösung verdünnt, die mit dem Antioxidanz Ascorbat supplementiert wurde. Um dennoch auszuschließen, daß die Tyramin-Effekt auf mögliche Dopamin-Kontaminationen zurückzuführen sind, wurde das Fettgewebe einiger Probanden mit steigenden Dopamin-Konzentrationen perfundiert. Dabei entsprachen die verwendeten Dopamin-Dosen jeweils 1% der zuvor verwendeten korrespondierenden Tyramin-Konzentration (71). Dopamin zeigte jedoch unter keiner der verwandten Dosen einen Effekt auf die Durchblutung im subkutanen Fettgewebe.

Zudem sollte geprüft werden, welche Effekte Dopamin auf die lipolytische Aktivität im Fettgewebe hat. In der niedrigsten Konzentrationen stimulierte Dopamin nur tendenziell die Lipolyse im Fettgewebe. Dopamin erhöhte dagegen die lipolytische Aktivität im weißen Fettgewebe von Schafen bzw. in braunen Adipocyten von Ratten deutlich (72,73). Im Allgemeinen bindet Dopamin in niedrigen Dosen (bis 3  $\mu\text{g/kg/min}$  i.v.) an Dopamin-Rezeptoren (13). Letztere werden nach Rezeptoren des Typ 1 (D1, D5), über welche die Adenylatcyclase stimuliert wird, und des Typ 2 (D2, D3, D4), über die die Adenylatcyclase inhibiert wird, unterteilt (73). Bisher ist nicht bekannt, ob Dopamin-Rezeptoren im humanen Fettgewebe existieren. Die mRNA beider Rezeptor-Typen wurden in humanen Präadipocyten und Adipocyten in einer Pilotstudie nachgewiesen (Adams et al., unveröffentlicht). Die mRNA der Typ 1 Rezeptoren wird während der Adipogenese hochreguliert, was auf eine funktionelle Bedeutung dieser Rezeptoren im humanen Fettgewebe hinweisen könnte (Abb. 26). In einer Dosis bis 5  $\mu\text{g/kg/min}$  i.v. stimuliert Dopamin zusätzlich  $\beta$ -Adrenozeptoren (13). So wurde die dopamin-induzierte Lipolyse bei den braunen Adipocyten durch eine  $\beta$ -Adrenozeptor-Blockade inhibiert (73). Die Perfusion mit höheren Dopamin-Konzentrationen führte im Fettgewebe zu einer deutlichen Verminderung der Lipolyse, möglicherweise über eine Aktivierung von  $\alpha_2$ -Adrenozeptoren. Dopamin stimuliert in hohen Dosen zusätzlich  $\alpha$ -Adrenozeptoren (13). Inwiefern Dopamin einen regulatorischen Einfluß auf die Durchblutung und den Fettgewebsstoffwechsel beim Menschen hat, wird in weiterführenden Studien mit physiologischen Dopamin-Konzentrationen untersucht werden.

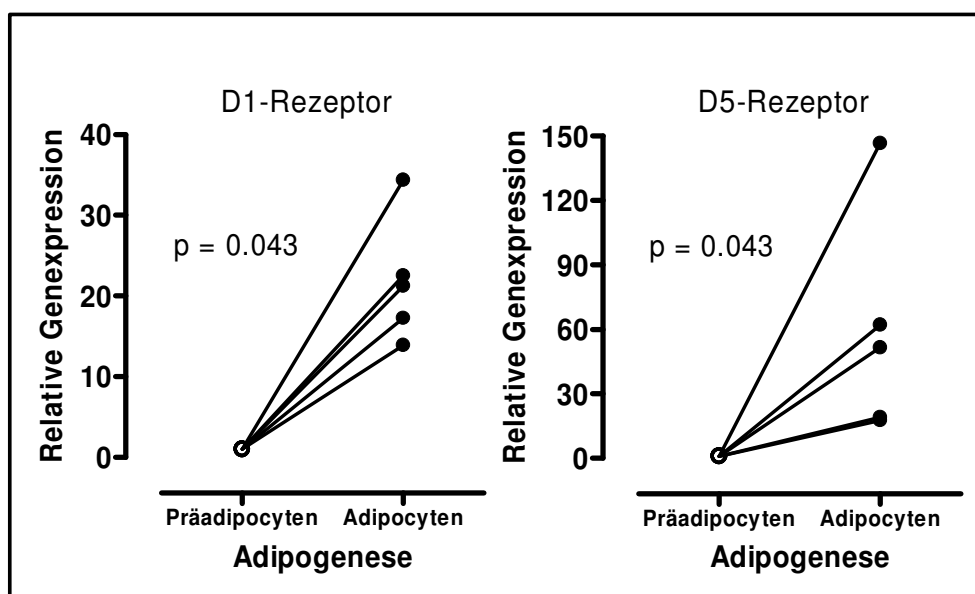


Abb. 26: Relative Genexpression der Dopamin-Rezeptoren des Typ 1 (D1 und D5) während der Adipogenese im subkutanen Brustfettgewebe von Frauen (n=5) untersucht mittels RT-PCR. Die relative Genexpression der Präadipocyten wurde „1“ gesetzt. Statistische Analyse: Wilcoxon-Test.

Der unspezifische  $\beta$ -Adrenozeptor-Antagonist Propranolol erwies *in-vitro* als der effektivste  $\beta$ -Adrenozeptor-Blocker, um die katecholamin-induzierte Lipolyse in humanen Adipocyten zu inhibieren (104). Die isoproterenol-induzierte Lipolyse konnte durch Propranolol in der vorliegenden Arbeit komplett geblockt, die tyramin-induzierte Lipolyse deutlich abgeschwächt werden. Daraus folgt, daß der  $\beta$ -Adrenozeptor in die tyramin-stimulierte Lipolyse involviert ist. Die tyramin-induzierte Vasodilatation konnte dagegen nicht durch Propranolol geblockt werden. Jedoch blockte Propranolol auch den vasodilatatorischen Effekt von Isoproterenol nicht signifikant.

Die tyramin-stimulierte Lipolyse war im Fettgewebe der Frauen signifikant höher als im Fettgewebe der Männer, was zunächst darauf hindeutet, daß die periphere Noradrenalin-Freisetzung geschlechtsabhängig reguliert wird. Jedoch war die lipolytische Antwort der Frauen auch dann höher, wenn das Fettgewebe mit dem  $\beta_{1,2,3}$ -Adrenozeptor-Agonisten Isoproterenol stimuliert



wurde. Die geschlechtsspezifischen Unterschiede in der tyramin-stimulierten Lipolyse im Fettgewebe sind daher wahrscheinlich eher auf Unterschiede in der postsynaptischen als in der präsynaptischen Ebene zurückzuführen. Tatsächlich werden bei körperlicher Aktivität im Fettgewebe von Männern  $\alpha$ - und  $\beta$ -Adrenozeptoren aktiviert, bei den Frauen aber vornehmlich  $\beta$ -Adrenozeptoren (105). Die systemische Blockade des Noradrenalin-Transporters mit dem selektiven Noradrenalin-Transporter-Hemmer Reboxetin zeigte im Gegensatz dazu Unterschiede in der Regulation von Herzfrequenz und Herzschlagvolumen zwischen Frauen und Männern (106).

## 4.2 Humorale Regulation

Ziel dieser Teilstudie war, die Hypothese zu prüfen, daß lokal appliziertes Angiotensin II die Lipolyse und die Durchblutung im Fettgewebe vermindert. Außerdem sollte geprüft werden, ob Angiotensin II Durchblutung und Stoffwechsel im Skelettmuskel beeinflusst.

Intra-vaskulär appliziertes Angiotensin II wirkt vasokonstriktorisches (13). In der vorliegenden Arbeit führte die lokale Perfusion des Fettgewebes mit Angiotensin II zumindest bei den Frauen zu einer schwachen Vasokonstriktion und einer leicht verminderten Glucoseversorgung. Im Fettgewebe der Männer wurden Durchblutung und Lipolyse hingegen nicht durch Angiotensin II beeinflusst. Im Skelettmuskel inhibierte Angiotensin II die Lipolyse. Auf die Durchblutung und nutritive Versorgung des Skelettmuskels hatte Angiotensin II keinen Einfluß.

Die fehlende Wirkung von Angiotensin II auf die Lipolyse im Fettgewebe ist übereinstimmend mit Studien an Nagern, in denen weder *in-vitro* noch *in-vivo* ein akuter Effekt auf die Lipolyse nachgewiesen wurde (41,42,43). Bei jungen, gesunden Männern führte sowohl die Infusion mit Angiotensin II als auch die Blockade des Renin-Angiotensin-Systems ebenfalls zu keinen Änderungen in der systemischen Lipolyse (107). Nach 7 und 12 Tagen stimulierte Angiotensin II dagegen *in-vivo* über die Freisetzung von

Noradrenalin die Lipolyse im Fettgewebe von Ratten (40). Interessanterweise reduzierte die Behandlung mit dem ACE-Hemmer Enalapril die Fettsäurefreisetzung aus dem Fettgewebe bei insulin-resistenten Hypertonikern (108). Es wäre daher möglich, daß Angiotensin II die lipolytische Aktivität im Fettgewebe eher langfristig, beispielsweise in pathophysiologischen Zuständen wie einer Adipositas oder Hypertonie, direkt beeinflusst. Angiotensin II stimulierte *in-vitro* die Lipogenese bei humanen Adipocyten und Präadipocyten von Nagern (44). Eventuell beeinflusst Angiotensin II auch *in-vivo* die Lipogenese im humanen Fettgewebe.

Im Gegensatz zum Fettgewebe verminderte sich im Skelettmuskel der untersuchten Männer die Glycerol-Konzentration während der Perfusion mit steigenden Angiotensin II-Dosen, was auf einen direkten anti-lipolytischen Effekt von Angiotensin II im Muskel hinweist. Möglicherweise fördert Angiotensin II die Ausbildung intra-muskulärer Lipidspeicher, die zur Entwicklung der Insulinresistenz bei Adipösen beitragen könnten (9). Es ist bekannt, daß Angiotensin II die intrazelluläre  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentration in vaskulären glatten Muskelzellen erhöht (47). Außerdem konnte gezeigt werden, daß die Lipolyse über einen Anstieg der intrazellulären  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentration inhibiert wird (47). Daher vermindert Angiotensin II möglicherweise auf diesem Weg die lipolytische Aktivität im Skelettmuskel.

Angiotensin II führte außerdem zu einer deutlichen Verminderung der Pyruvat-Lactat-Ratio bei unveränderter Lactat-Konzentration, was in glucose-metabolisierenden Geweben auf eine lokale hypoglycämische Situation hinweist (109). Angiotensin II inhibiert möglicherweise den transkapillaren Glucose-Transport im Skelettmuskel. Gestützt wird diese Vermutung dadurch, daß ACE-Hemmer den transkapillaren Glucose-Transport erhöhen (110). Der  $\text{AT}_1$ -Antagonist Valsartan verbesserte die Insulinresistenz und Glucoseaufnahme im Skelettmuskel diabetischer Mäuse über eine Stimulation der Insulinkaskade und der Zahl der GLUT4-Rezeptoren (48).

Sexualhormone beeinflussen das Renin-Angiotensin-System in verschiedenen Geweben, wodurch die geschlechtsabhängige Inzidenz der

Hypertonie erklärt werden kann (60). Daher könnte Angiotensin II auch die lokale Durchblutung im Fettgewebe geschlechtsabhängig regulieren. Tatsächlich verminderte Angiotensin II im Fettgewebe der Frauen die Durchblutung, bei den Männern hingegen nicht. Die basale Durchblutung bei den in dieser Teilstudie untersuchten weiblichen Probanden war jedoch höher als bei der männlichen Gruppe. Dies wurde bereits in einer anderen Mikrodialysestudie gezeigt (98). Ist die basale Durchblutung auf niedrigem Niveau, scheinen als potente Vasokonstriktoren bekannte Substanzen, wie Adrenalin, Phenylephrin oder wie in dieser Arbeit gezeigt Angiotensin II, die Durchblutung nicht weiter vermindern zu können (65,99). Im Gegensatz dazu zeigten sich in der basalen Durchblutung bei den Probanden der ersten Teilstudie keine geschlechtsspezifischen Unterschiede. Auf diesen Aspekt wird in der Diskussion der dritten Teilstudie genauer eingegangen.

### 4.3 Einfluß der Hautfaltendicke

In dieser Teilstudie wurde die Hypothese untersucht, ob sich die relative Durchblutung im Fettgewebe bereits bei Normalgewichtigen mit zunehmender Hautfaltendicke vermindert und folglich lipolytische Aktivität und Glucoseversorgung des Fettgewebes negativ beeinflußt werden.

Die Ethanol Ratio zeigte einen positiven, die Harnstoff-Dialysat-Konzentration einen negativen linearen Zusammenhang mit der Hautfaltendicke in beiden Geschlechtern. Die Durchblutung des Fettgewebes nahm demzufolge linear mit steigender Hautfaltendicke ab. Die Durchblutung im Fettgewebe von Adipösen ist im Vergleich zu Schlanken deutlich vermindert (54,56,57,111). Die vorliegende Arbeit zeigt, daß bereits bei Normalgewichtigen ein Anstieg des Fettgewebsschicht mit Änderungen in der Gewebepfusion verbunden ist. Dieser Zusammenhang könnte auf eine veränderte zelluläre Zusammensetzung des Fettgewebes im Zuge seiner Expansion zurückzuführen sein. Ein schwacher bis moderater Anstieg des Körperfettgehaltes ist mit einer Hypertrophie der Adipocyten assoziiert, während die absolute Zahl an Adipocyten unverändert bleibt (52). Das hypertrophe Wachstum des Fettgewebe wird vermutlich nicht von einer hinreichenden Vaskularisierung des Gewebes begleitet und daher mit Mikrogefäßen unterversorgt.

Im Tiermodell korrelierte die Adipocytengröße umgekehrt mit der Durchblutung des Fettgewebes, wenn sie auf den Fettgehalt oder das Feuchtgewicht des Gewebes bezogen wird (7). Die Veränderungen in der Durchblutung, die mittels Mikrodialysetechnik bestimmt werden, beziehen sich auf *eine Einheit* Fettgewebe. Daraus folgt, daß sich die Durchblutung mit ansteigender Adipocytengröße vermindern muß. Die proportional zur Hautfaltendicke verminderte Durchblutung des Gewebes spiegelt somit wahrscheinlich einen Anstieg der Adipocytengröße mit zunehmender Hautfaltendicke wider. Wird der erhöhte Fettgehalt der hypertrophierenden Adipocyten berücksichtigt, bleibt die Durchblutung je Adipocyte konstant (7).

Die Bestimmung der Hautfaltendicke mittels Calipertechnik bezieht sich auf den Durchmesser der Adipocyten. Da das Gewicht des Fettgewebes eine kubische Funktion des Adipocytendurchmessers darstellt, ist eher ein exponentieller Zusammenhang zwischen Hautfaltendicke und Durchblutung anstatt einer linearen Korrelation zu erwarten. Die Hautfaltendicke mit Hilfe der Calipertechnik bei Adipösen zu bestimmen, wird jedoch als zu ungenau eingestuft (112). Daher konnten Basaldaten von ebenfalls mit der Mikrodialysetechnik untersuchten Adipösen nicht in die hier dargelegten Korrelationen einbezogen werden. Allerdings scheint der lineare Zusammenhang zwischen Durchblutung und Hautfaltendicke nur bis zu einer Hautfaltendicke von ca. 50 bis 60 mm zu gelten. Die Hautfaltendicke der Adipösen konnte mit Sicherheit höher als 60 mm (obere Bestimmungsgrenze des für diese Studien verwendeten Calipers) abgeschätzt werden. Tatsächlich folgten Durchblutung, nutritive Versorgung des Gewebes, Lipolyse wie auch Glycolyse nicht mehr einem linearen, sondern exponentiellen Zusammenhang mit der abgeschätzten Hautfaltendicke.

Eine verminderte Gewebepfusion sollte mit einer verminderten Versorgung des Gewebes an Substraten assoziiert sein. Die Glucosekonzentration im Dialysat nimmt nicht nur linear mit zunehmender Hautfaltendicke sondern auch mit ansteigender Ethanol-Ratio, d.h. mit verminderter Gewebepfusion, ab.

Die Glycerolkonzentration im Dialysat sank ebenfalls linear mit ansteigender Hautfaltendicke, d.h. die lipolytische Aktivität der Adipocyten vermindert sich mit einer reduzierten Durchblutung. Dies könnte einerseits darauf zurückzuführen sein, daß die verminderte Durchblutung eine Produktakkumulation (Fettsäuren, Glycerol) induziert, welche wiederum die Lipolyse inhibiert. Andererseits wird die Lipolyse, wenn sie mittels Mikrodialysetechnik bestimmt wird, auf eine Einheit Fettgewebe bezogen. Bei einer Hypertrophie der Adipocyten mit zunehmender Hautfaltendicke vermindert sich damit die Zahl der Adipocyten um die Mikrodialysesonde. Aus *in-vitro* Studien ist bekannt, daß sich die lipolytische Aktivität von

Adipocyten mit zunehmender Zellgröße verringert, wenn die Lipolyse auf die Zelloberfläche bezogen wird (90). Daher könnten die Änderungen in der Lipolyse, die in dieser Studie mit Hilfe der Mikrodialyse beobachtet worden sind, vergleichbar sein mit den *in-vitro* Versuchen, bei denen ebenfalls die Zelloberfläche als Bezugsgröße festgelegt wurde.

Zwischen Hautfaltendicke und Durchblutung sowie nutritiver Versorgung des Fettgewebes während der Perfusion mit 1,0  $\mu$ M Isoproterenol bestand zumindest bei den Frauen ein linearer Zusammenhang. Zwischen Hautfaltendicke und isoproterenol-stimulierter Lipolyse konnte jedoch keine signifikante lineare Korrelation beobachtet werden. Die lokale Konzentration von Stoffwechselmetaboliten ist einerseits von der Produktion durch die Adipocyten und andererseits vom Abtransport über die Zirkulation abhängig. Daher kann nicht zwischen dem Prozeß der isoproterenol-induzierten Glycerolfreisetzung der Adipocyten einerseits und dem Prozeß des erhöhten Abtransportes während der Perfusion mit dem Vasodilatator Isoproterenol unterschieden werden. Ein möglicher linearer Zusammenhang zwischen Hautfaltendicke und stimulierter Lipolyse könnte dadurch maskiert sein.

Geschlechtsspezifische Unterschiede hinsichtlich basaler Durchblutung im subkutanen Fettgewebe werden in der Literatur kontrovers diskutiert. Zum einen wurde eine höhere Durchblutung im Fettgewebe von Männern im Vergleich zu Frauen beobachtet, während in einer anderen Studie keine geschlechtsspezifischen Unterschiede in der Durchblutung des Fettgewebes gefunden wurden (98,113,114). Die Ergebnisse dieser Teilstudie zeigen, daß die Durchblutung unabhängig vom Geschlecht mit zunehmender Hautfaltendicke abnimmt. Diese Beobachtung macht deutlich, daß die basale Durchblutung eher von der Dicke der Hautfalte als vom Geschlecht abhängig ist. Die Hautfaltendicken der untersuchten Probanden sollten daher in Zukunft in Studien mit der Mikrodialysetechnik unbedingt berücksichtigt werden.

#### 4.4 Diskussion der Methoden

Die Studien der vorliegenden Arbeit wurden mittels Mikrodialysetechnik durchgeführt. Der wesentliche Vorteil dieser Technik besteht darin, daß verschiedene Regulationsebenen, inklusive der Einfluß der Hämodynamik, simultan untersucht werden können. Zudem kann eine hohe lokale Dosis eines Wirkstoffes im Gewebe erzielt werden, ohne systemische Wirkungen auszulösen.

Ödeme oder Blutungen treten nach Implantation der Sonden im Fettgewebe nicht auf (61). Anhand freigesetzten ATPs war 15 min nach Sondenimplantation kein Mikrotrauma nachzuweisen (115). Die Konzentration an Adenosin, freigesetzt von beschädigten Zellen, ist in unmittelbarer Umgebung der Sonde gering (116). Aus verletzten Zellen freigesetzte Marker-Metaboliten könnten jedoch Änderungen in der Stoffwechselaktivität vortäuschen, die tatsächlich nicht vorhanden sind. Daher wurde in der vorliegenden Arbeit stets eine 30minütige Äquilibrationsphase eingeplant. Nach diesem Zeitraum lagen keine signifikanten Änderungen der Marker-Metaboliten-Konzentration im Vergleich zu späteren Zeitpunkten vor. Die Ethanol Ratio blieb ebenfalls stabil.

Relative Änderungen in der Durchblutung wurden mittels Ethanol-Dilutions-Technik abgeschätzt. Die Technik wurde am Skelettmuskel etabliert, mittels  $^{133}\text{Xe}$ -Clearance Technik validiert und für das Fettgewebe weiterentwickelt (74,76,97,117). Ethanol wird aufgrund der fehlenden Alkoholdehydrogenase nicht vom Fettgewebe metabolisiert (118). Systemisch appliziert wirkt Ethanol vasokonstriktorisch (119). Für den Bereich von 50 bis 1000 mM bzw. von 5 bis 1100 mM liegen keine metabolischen oder hämodynamischen Effekte in Fettgewebe oder Skelettmuskel vor (74,81). Die Harnstoff-Dialysat-Konzentration gilt als eine unabhängige Alternative, relative Änderungen der Durchblutung im Fettgewebe abzuschätzen (75). Vorausgesetzt wird, daß Harnstoff im Fettgewebe nicht produziert wird oder wenn doch, in einer konstanten Zeitrates (92,120). Ein Anstieg in der Durchblutung führt zu einem

erhöhten Abtransport von Harnstoff aus dem Fettgewebe. Die Ethanol Ratio im Fettgewebe korrelierte negativ linear mit der Harnstoffkonzentration im Dialysat, was zeigt, daß die Ethanol-Dilutions-Technik geeignet ist, relative Durchblutungsänderungen im Fettgewebe abzuschätzen. Änderungen in der Durchblutung des Fettgewebes, z.B. hervorgerufen durch vasoaktive Pharmaka, sind mit Änderungen in der nutritiven Versorgung des Gewebes assoziiert (99). Die Ethanol Ratio korrelierte ebenfalls signifikant negativ linear mit der Glucosekonzentration im Dialysat. Die nutritive Versorgung des Fettgewebes ist demnach auch unter Basal-Bedingungen stark von der Höhe der Durchblutung abhängig.

Vasodilatatorische Effekte im Fettgewebe lassen sich sowohl mittels  $^{133}\text{Xe}$ -Washout-Methode als auch mittels Ethanol-Dilutions-Technik nachweisen (75,76,77). Die Ethanol-Dilutions-Technik ist möglicherweise aber im Vergleich zur  $^{133}\text{Xe}$ -Washout-Methode nicht sensitiv oder ausreichend schnell genug, um vasokonstriktorische Wirkungen zu bestimmen (75). Andererseits eignet sich die  $^{133}\text{Xe}$ -Washout-Methode weniger, Durchblutungsänderungen in unmittelbarer Umgebung der Sonde abzuschätzen (8). Es gilt allgemein, daß mittels Ethanol-Dilutions-Technik nur Durchblutungsänderungen > 50% erfaßt werden können (74). Eventuell lag ein schwacher vasokonstriktorischer Effekt von Angiotensin II in den Geweben vor, der mit der Ethanol-Dilutions-Technik jedoch nicht nachweisbar war. Im Gegensatz zur vorliegenden Arbeit wirkte Angiotensin II in einer zwischenzeitlich publizierten Mikrodialysestudie im Fettgewebe von normalgewichtigen Männern schwach vasokonstriktorisch (47). Es wurde ebenfalls die Ethanol-Dilutions-Technik angewendet. Wurden Änderungen der Ethanol Ratio wie in der vorliegenden Arbeit auf die basale Ausgangs-Ethanol Ratio bezogen, hatte Angiotensin II jedoch auch in dieser Studie keinen hämodynamischen Einfluß im Fettgewebe. Im Vergleich zu Kontrollläufen zeigte Angiotensin II einen schwachen Anstieg der Ethanol Ratio um ca. 10% und weniger.

Die Dicke des Fettgewebes wurde mittels Calipertechnik an der



Implantationsstelle vermessen. Die Variabilität hinsichtlich der Hautfaltendicken der Probanden ist hauptsächlich auf Unterschiede in der Dicke des subkutanen Fettgewebes zurückzuführen (59). Für die Anwendung an adipösen Probanden werden in der Literatur zahlreiche Nachteile der Caliper-Technik aufgeführt, z.B. ein nicht ausreichend großer Öffnungswinkel der Meßschenkel oder die Schwierigkeit bei Adipösen, zwischen Fettgewebe und Skelettmuskulatur zu unterscheiden (112). Die Ultraschalltechnik wird daher als die exaktere Methode eingestuft (112). Im Gegensatz dazu hat sich die Anwendung der Caliper-Technik bei Schlanken als ebenso geeignet erwiesen wie die Ultraschalltechnik (121).

Die Charakterisierung der Funktion postganglionärer adrenerger Neurone erfolgte durch lokale Tyramin-Applikation in aufsteigenden Konzentrationen mittels Mikrodialyse-Sonde. Die Perfusion mit der höchsten Tyramin-Konzentration führte zu einem deutlichen anti-lipolytischen Effekt, der auch an isolierten Adipocyten gezeigt werden konnte. Dieser Effekt ist möglicherweise auf eine Kontamination des Tyramins mit Dopamin zurückzuführen (71). Daher sollte Tyramin zur Untersuchung der Noradrenalin-Freisetzung nur bis zu einer Konzentration von 3,5 mM eingesetzt werden. Die Tyramin-Präparationen sollten außerdem auf ihren Dopamin-Gehalt geprüft werden.

## 5 Schlußfolgerungen und Ausblick

Die vorliegende Arbeit zeigt, daß die lokale neuronale Noradrenalin-Freisetzung eine wichtige Rolle in der Regulation der Lipolyse des humanen, abdominalen Fettgewebes spielt (Abb. 27). Geschlechtsspezifische Differenzen in der Noradrenalinfreisetzung, wie sie anhand kardialer Unterschiede während systemischer Noradrenalin-Transporter-Hemmung gefunden wurden, lagen nicht vor (106). In einer weiterführenden Studie soll mit diesem Ansatz geprüft werden, ob eine simulierte Mikrogravitation Auswirkungen auf die Funktion adrenerger Neurone in Fettgewebe und Skelettmuskel zeigt. Außerdem soll untersucht werden, ob eine Aktivierung des sympathischen Nervensystems bei Hypertonikern mit peripheren Änderungen der Noradrenalinfreisetzung assoziiert ist (122).

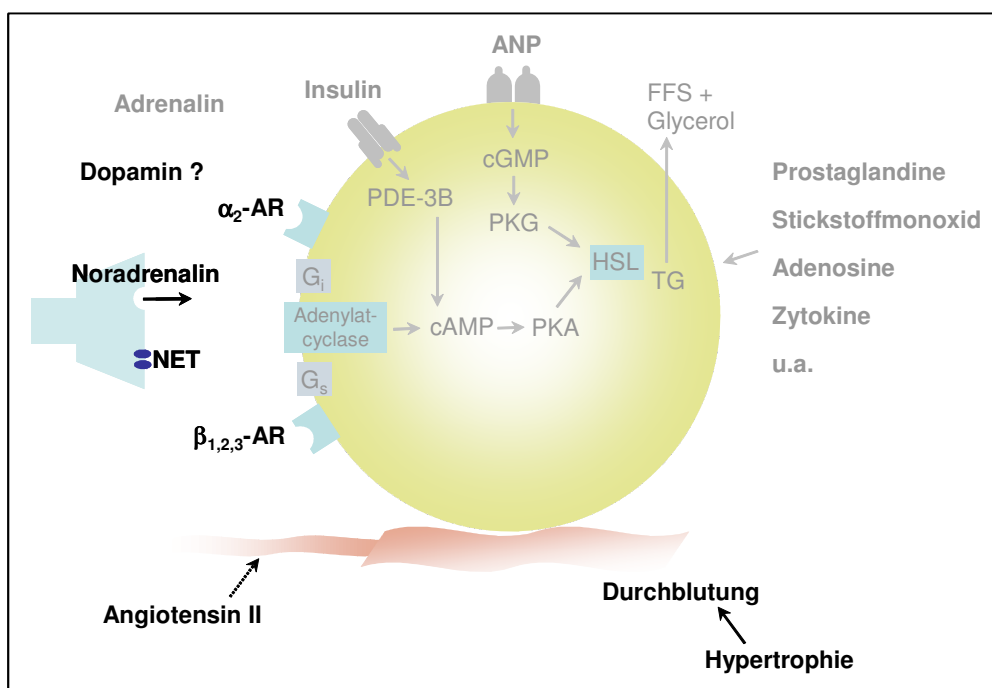


Abb. 27: Regulation der Lipolyse im humanen Fettgewebe.  $\alpha_2$ -AR:  $\alpha_2$ -Adrenozeptor,  $\beta_{1,2,3}$ :  $\beta_{1,2,3}$ -Adrenozeptoren,  $G_i$ : inhibitorisches G-Protein,  $G_s$ : stimulierendes G-Protein, cAMP: 3',5'-cyclo Adenosinmonophosphat, cGMP: 3',5'-cyclo Guanosinmonophosphat, PDE-3B: Phosphodiesterase 3B, PKA: Proteinkinase A, PKG: Proteinkinase G, FFS: freie Fettsäuren, HSL: Hormonsensitive Lipase, TG: Triacylglyceride. NET: Noradrenalin-Transporter. Modifiziert nach Stich/Berlan 2004.

Die akute Applikation von Angiotensin II im subkutanen Fettgewebe hatte nur bei den Frauen einen schwachen indirekten Effekt auf die Lipolyse. Langzeitstudien, bei denen die Mikrodialysesonde mehrere Tage im Fettgewebe verbleibt, können zeigen, welchen Einfluß eine längerfristige Applikation auf den lokalen Stoffwechsel ausübt. Dabei sind Wechselwirkungen mit pharmakologischen Interventionen wie einer  $\beta$ -Adrenozeptor- oder  $AT_1$ -Rezeptor-Blockade und Vergleiche zwischen Normo- und Hypertonikern von Bedeutung.

Dopamin wirkte zumindest in pharmakologischen Dosen auf die Lipolyse im Fettgewebe. Weiterführende Studien mit physiologischen Dopamin-Konzentrationen werden demnächst starten, in denen untersucht wird, ob Dopamin tatsächlich eine regulatorische Funktion auf die Lipolyse im Fettgewebe hat. Beim Menschen beeinflusste eine Infusion mit niedrigen Dopamin-Dosen zumindest die systemische Lipolyse und den Energiestoffwechsel (123). Western-Blot-Untersuchungen sollen Kenntnisse zur Verteilung der Dopamin-Rezeptoren im humanen Fettgewebe bringen. Außerdem wird derzeit eine Studie initiiert, in der der lokale Fettstoffwechsel von Patienten mit idiopathischen Parkinson-Syndrom untersucht wird. Patienten mit Levodopa-Medikation zeigen z.T. hohe Schwankungen in der peripheren Plasma-Konzentration an L-Dopa, der Vorstufe des Dopamins (124). Die Studie soll mögliche Zusammenhänge zwischen der Wirkung von Dopamin im Fettgewebe und der typischen Körpergewichtsabnahme dieser Patienten aufzeigen (125).

Die Durchblutung und die Lipolyse verminderte sich bereits bei Normalgewichtigen mit zunehmender Fettgewebsdicke, wie bisher nur an Adipösen gezeigt werden konnte (54,56,57,111). In Zukunft sollte in Mikrodialysestudien die Hautfaltendicken der untersuchten Probanden berücksichtigt werden. Die Zellularität des dialysierten Gewebes konnte in der vorliegenden Arbeit nicht bestimmt werden. Eine Körpergewichtsreduktion geht mit einer verringerten Adipocytengröße bei konstanter Zellzahl einher (126). Studien, die Probanden jeweils vor und

nach einer Gewichtsreduktion untersuchen, könnten die Ergebnisse dieser Arbeit bekräftigen. Zudem sollte geprüft werden, ob der lineare Zusammenhang zwischen Hautfaltendicke und Durchblutung auch im femoralen Fettgewebe vorliegt. Anders als im abdominalen Fettgewebe ist die Durchblutung im femoralen subkutanen Fettgewebe zumindest bei adipösen Kindern nicht vermindert (127).

## 6 Literaturverzeichnis

1. Wechsler JG (Herausgeber). Adipositas - Ursachen und Therapie. Blackwell Verlag GmbH Berlin 2003.
2. Wirth A (Herausgeber). Adipositas-Fibel. Springer-Verlag Berlin-Heidelberg 1998.
3. Stich V und Berlan M. Physiological regulation of NEFA availability: lipolysis pathway. Proc Nutr Soc 2004; 63: 369-374.
4. Engeli S, Gorzelniak K, Kreutz R et al. Co-expression of renin-angiotensin system genes in human adipose tissue. J Hypertens 1999; 17: 555-560.
5. English V und Cassis L. Facilitation of sympathetic neurotransmission contributes to angiotensin regulation of body weight. J Neural Transm 1999; 106: 631-644.
6. Enoksson S, Nordenstrom J, Bolinder J. Influence of local blood flow on glycerol levels in human adipose tissue. Int J Obes Metab Disord 1995; 19: 350-354.
7. DiGirolamo M, Skinner NS, Hanley HG et al. Relationship of adipose tissue blood flow to fat cell size and number. Int J Physiol 1971; 220: 932-937.
8. Hagström-Toft E, Enoksson S, Moberg E et al. Beta-adrenergic regulation of lipolysis and blood flow in human skeletal muscle in-vivo. Am J Physiol 1998; 275: 909-916.
9. Kelley DE, Goodpaster BH und Storlien L. Muscle triglyceride and insulin. Annu Rev Nutr 2002; 22: 325-346.
10. Tschöp M und Heiman ML. Rodent obesity models: an overview. Exp Clin Endocrinol Diabetes 2001; 109: 307-319.

- 
11. Rayner DV. The sympathetic nervous system in white adipose tissue regulation. *Proceed Nutr Soc* 2001; 60: 357-364.
  12. Engeli S, Schling P, Gorzelniak K et al. The adipose tissue renin-angiotensin-aldosterone system: role in the metabolic syndrome? *Int J Biochem Cell Biol* 2003; 35: 807-825.
  13. Forth W, Henschler D, Rummel W (Herausgeber). Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie, 8. Auflage, Urban und Fischer Verlag 2004.
  14. Boschmann M. Heterogeneity of adipose tissue metabolism. In: Klaus S (Herausgeberin), Adipose tissue. Georgetown, TX: Landes Bioscience 2001; 131-157.
  15. Enoksson S, Shimizu M, Lönnqvist F et al. Demonstration of an in-vivo functional beta-3-adrenoceptor in man. *J Clin Invest* 1995; 95: 2239-2245.
  16. Lafontan M, Barbe P, Galitzky J et al. Adrenergic regulation of adipocyte metabolism. *Hum Reprod* 1997; 12: 6-20.
  17. Barbe P, Millet L, Galitzky J et al. In situ assessment of the role of the beta 1-, beta 2-, and beta 3-adrenoceptors in the control of lipolysis and nutritive blood flow in human subcutaneous adipose tissue. *Br J Pharmacol* 1996; 117: 907-913.
  18. Krief S, Lönnqvist F, Raimbault S et al. Tissue distribution of the beta 3-adrenergic in man. *J Clin Invest* 1993; 91: 344-349.
  19. Faintrenie G und Géloën A. Alpha 1-regulation of lactate production by white adipocytes . *J Pharm Exp Ther* 1996; 277: 235-238.
  20. Leibel R und Hirsch J. Site- and sex-related difference in adrenoceptor status of human adipose tissue. *J Clin Endocrinol Metab* 1987; 64: 1205-1210.
  21. Lönnqvist F, Thorne A, Large V et al. Sex differences in visceral fat

- 
- lipolysis and metabolic complications in obesity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997; 17: 1472-1480.
22. Boschmann M, Schröder C, Christensen NJ et al. Norepinephrine transporter function and autonomic control of metabolism. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 5130-5137.
23. Iversen L. Neurotransmitter transporters: Fruitful targets for CNS drug discovery. *Mol Psychiatry* 2000; 5: 357-362.
24. Galli A, Blakely RD und DeFelice LJ. Norepinephrine transporters have channel modes of conduction. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 8671-8676.
25. Tejani-Butt SM und Yang J. a time course of altered thyroid states on the noradrenergic system in rat brain by quantitative autoradiography. *Neuroendocrinology* 1994; 59: 235-244.
26. Figlewicz DP. Endocrine regulation of neurotransmitter transporters. *Epilepsy Res* 1999; 37: 203-210.
27. Shang Y und Dluzen DE. Castration increases nisooxetine-evoked norepinephrine levels in vivo within the olfactory bulb of male rats. *Neurosci Lett* 2002; 328: 81-84.
28. Yang SP, Pau KY und Spies HG. Gonadectomy alters tyrosine hydroxylase and norepinephrine transporter mRNA levels in the locus coeruleus in rabbits. *J Neuroendocrinol* 1997; 9: 763-768.
29. Jacob G und Biaggioni I. Idiopathic orthostatic intolerance and postural tachycardia syndromes. *Am J Med Sci* 1999; 317: 88-101.
30. Shannon JR, Flattem NL, Jordan J et al. Orthostatic intolerance and tachycardia associated with norepinephrine transporter deficiency. *N Engl J Med* 2000; 342: 541-549.
31. Timmermans PBMWM, Wong PC, Chiu AT et al. Angiotensin receptors and angiotensin II receptor antagonists. *Pharmacol Rev* 1993; 45:

205-251.

32. Jones A und Woods DR. Skeletal muscle RAS and exercise performance. *Int J Biochem Cell Biol* 2003; 35: 855-866.
33. Schütz S, Le Moullec JM, Corvol P et al. Early expression of all the components of the renin-angiotensin-system in human development. *Am J Pathol* 1996; 149: 2067-2079.
34. Engeli S, Negrel R und Sharma AM. Physiology and pathophysiology of the adipose tissue renin-angiotensin system. *Hypertension* 2000; 35: 1270-1277.
35. Cassis LA, Marshall DE, Fettingner MJ et al. Mechanisms contributing to angiotensin II regulation of body weight. *Am J Physiol* 1998; 274: E867-E876.
36. Brink M, Wellen J und Delafontaine P. Angiotensin II causes weight loss and decreases circulating insulin-like growth factor I in rats through a pressure-independent mechanism. *J Clin Invest* 1996; 97: 2509-2516.
37. Harrison-Bernard LM, El-Dahr SS, O'Leary DF et al. Regulation of angiotensin II type 1 receptor mRNA and protein in angiotensin II-induced hypertension. *Hypertension* 1999; 33: 340-346.
38. Cassis LA und Dwoskin LP. Presynaptic modulation of neurotransmitter release by endogeneous angiotensin II in brown adipose tissue. *J Neural Transm Suppl* 1991; 34: 129-137.
39. Cassis LA und Dwoskin LP. Acute and chronic losartan administration: effect on angiotensin II content and modulation of [3H]norepinephrine release from rat interscapular brown adipose tissue. *J Neural Transm Gen Sect* 1994; 98: 159-164.
40. Cabassi A, Coghi P, Govoni P et al. Sympathetic modulation by carvediol and losartan reduces angiotensin II - mediated lipolysis in subcutaneous and visceral fat. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90:



2888-2897.

41. Axelrod L, Minnich AK und Ryan CA. Stimulation of prostacyclin production in isolated rat adipocytes by angiotensin II, vasopressin, and bradykinin: evidence for two separate mechanisms of prostaglandin synthesis. *Endocrinology* 1985; *116*: 2548-2553.
42. Darimont C, Vassaux G, Gaillard D et al. In situ microdialysis of prostaglandins in adipose tissue: stimulation of PGI<sub>2</sub> release by angiotensin II. *Int J Obes* 1994; *18*: 783-788.
43. Adams F, Klaus S und Boschmann M. Metabolic and hemodynamic response to angiotensin II in rat adipose tissue (Abstract). *Int J Obes Relat Metab Disord* 2000; *24*.
44. Jones BH, Standridge MK und Moustaid N. Angiotensin II increases lipogenesis in 3T3-L1 and human adipose cells. *Endocrinology* 1997; *138*: 1512-1519.
45. McGrath BP, Matthews PG, Louis W et al . Double blind study of dilevalol and captopril, both in combination with hydrochlorothiazide, in patients with moderate to severe hypertension. *J Cardiovasc Pharmacol* 1990; *16*: 831-838.
46. Campbell DJ, Duncan AM, Kladis A et al. Converting enzyme inhibition and its withdrawal in spontaneously hypertensive rats. *J Cardiovasc Pharmacol* 1995; *26*: 426-436.
47. Goossens GH, Blaak EE, Saris WHM et al. Angiotensin II induced effects on adipose tissue and skeletal muscle blood flow and lipolysis in normal-weight and obese subjects. *J Clin Endo Metab* 2004; *89*: 2690-2696.
48. Shiuchi T, Iwai M, Li HS et al. Angiotensin II type 1 receptor blocker valsartan enhances insulin sensitivity in skeletal muscles of diabetic rats. *Hypertension* 2004; *43*: 1003-1010.

- 
49. Scheen AJ. Renin-angiotensin system inhibition prevents type 2 diabetes mellitus. Part 2. Overview of physiological and biochemical mechanisms. *Diabetes Metab* 2004; 30: 498-505.
  50. Schoonen AJM und Wientjes KJC. A model for transport of glucose in adipose tissue to a microdialysis probe. *Diabetes Technology & Therapeutics* 2003; 5: 589-598.
  51. Daig R, Staiger H und Löffler G. Pathophysiologie des Fettgewebes. *Ernährungsumschau* 1999; 46: 208-214.
  52. Björntorp P und Sjöström L. Number and size of adipose tissue fat cells in relation to metabolism in human obesity. *Metabolism* 1971; 20: 703-713.
  53. Crandall DL, Goldstein BM, Lizzo FH et al. Hemodynamics to obesity: influence of pattern of adipose tissue cellularity. *Am J Physiol* 1986; 251: 314-319.
  54. Blaak EE, van Baak MA, Kemerink GJ et al. Beta-adrenergic stimulation and abdominal subcutaneous fat blood flow in lean, obese, and reduced-obese subjects. *Metabolism* 1995; 44: 183-187.
  55. Bolinder J, Kerckhoffs DA, Moberg E et al. Rates of skeletal muscle and adipose tissue glycerol release in nonobese and obese subjects. *Diabetes* 2000; 49: 797-802.
  56. Jansson P, Larsson A, Smith U et al. Glycerol production in subcutaneous adipose tissue in lean and obese humans. *J Clin Invest* 1992; 89: 1610-1617.
  57. Summers LK, Samra JS, Humphreys SM et al. Subcutaneous abdominal adipose tissue blood flow: variation within and between subjects and relationship to obesity. *Clin Sci Colch* 1996; 91: 679-683.
  58. Tomanek RJ, Palmer PJ, Pfeiffer GL et al. Morphometry of canine coronary arteries, arterioles, and capillaries during hypertension and

- left ventricular hypertrophy. *Circ Res* 1986; 58: 38-46.
59. Després JP, Prud'homme D, Pouliot MC et al. Estimation of deep abdominal adipose tissue accumulation from simple anthropometric measurements in men. *Am J Clin Nutr* 1991; 54: 471-477.
60. Fischer M, Baessler A und Schunkert H. Renin angiotensin system and gender differences in the cardiovascular system. *Cardiovasc Res* 2002; 53: 672-677.
61. Lönnroth P und Smith U. Microdialysis - a novel technique for clinical investigations. *J Intern Med* 1990; 227: 295-300.
62. Ungerstedt U. Microdialysis - principles and applications for studies in animals and man. *J Intern Med* 1991; 230: 365-373.
63. Jacob J, Gamboa A, Diedrich A et al. Tyramine-induced vasodilation mediated by dopamine contamination: a paradox resolved. *Hypertension* 2005; 46: 355-359.
64. Gronlund B, Astrup A, Bie P et al . Noradrenalin release in skeletal muscle and in adipose tissue studied by microdialysis . *Clin Sci (Lond)* 1991; 80: 595-598.
65. Jordan J, Tank J, Christensen NJ et al. Interaction between beta-adrenergic receptor stimulation and nitric oxide release on tissue perfusion and metabolism. *J Clin Endocrin Metab* 2001; 86: 2803-2810.
66. Boschmann M, Ringel J, Klaus S et al. Metabolic and hemodynamic response of adipose tissue to angiotensin II. *Obes Res* 2001; 9: 486-491.
67. Grassi G, Seravalle G, Calhoun DA et al. Mechanisms responsible for sympathetic activation by cigarette smoking in humans. *Circulation* 1994; 90: 248-253.
68. Darimont C, Delansorne R, Paris J et al. Influence of estrogenic status on

- the lipolytic activity of parametrial adipose tissue in-vivo: an in-situ microdialysis study. *Endocrinology* 1997; *138*: 1092-1096.
69. Knußmann R. Anthropologie. Handbuch der vergleichenden Biologie des Menschen. Band I (1). Fischer Verlag Stuttgart 1988.
70. Holmes C, Eisenhofer G und Goldstein DS. Improved assay for plasma dihydroxyphenylacetic acid and other catechols using high-performance liquid chromatography with electrochemical detection. *J Chromatogr B Biomed Appl* 1994; *653*: 131-138.
71. Goldstein DS, Holmes C, Jacob G et al. Vasodilation during systemic tyramine administration. *Circulation* 2004; *109*: E17-E18.
72. Thompson GE. Dopamine and lipolysis in adipose tissue of the sheep. *Quart J Exp Physiol* 1984; *69*: 155-159.
73. Nisoli E, Tonello C, Memo M et al. Biochemical functional identification of a novel dopamine receptor subtype in rat brown adipose tissue. Its role in modulating sympathetic stimulation-induced thermogenesis. *J Pharmacol Exp Ther* 1992; *263*: 823-829.
74. Hickner RC, Rosdahl H, Borg I et al. The ethanol technique of monitoring local blood flow in rat skeletal muscle: implications for microdialysis. *Acta Physiol Scand* 1992; *146*: 87-97.
75. Karpe F, Fielding BA, Ilic V et al. Monitoring adipose tissue blood flow in man: a comparison between the (133) xenon washout method and microdialysis. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2002; *26*: 1-5.
76. Hickner RC, Bone D, Ungerstedt U et al. Muscle blood flow during intermittent exercise: comparison of the microdialysis ethanol technique and (133)Xe clearance. *Clin Sci* 1994; *86*: 15-25.
77. Hickner RC. Microdialysis in skeletal muscle: development and application of the microdialysis ethanol technique (Thesis). Stockholm, Karolinska Institutet 1995.

- 
78. Arner P, Liljeqvist L und Ostman J. Metabolism of mono- and diacylglycerols in subcutaneous adipose tissue of obese and normal-weight subjects. *Acta Med Scand* 1976; *200*: 187-194.
  79. Steinberg D, Vaughan M und Margolis S. Studies of triglyceride-biosynthesis in homogenates of adipose tissue. *J Biol Chem* 1961; *236*: 1631-1637.
  80. Jansson PA, Smith U und Lönnroth P. Evidence for lactate production by human adipose tissue in vivo. *Diabetologia* 1990; *33*: 253-256.
  81. Lafontan M und Arner P. Application of in situ microdialysis to measure metabolic and vascular responses in adipose tissue. *Current Techniques* 1996; *17*: 309-313.
  82. Bolinder J, Ungerstedt U und Arner P. Microdialysis measurement of the absolute glucose concentration in subcutaneous adipose tissue allowing glucose monitoring in diabetic patients. *Diabetologia* 1992; *35*: 1177-1180.
  83. Rosdahl H, Hamrin K, Ungerstedt U et al. Metabolites levels in human skeletal muscle and adipose tissue studied with microdialysis at low perfusion flow. *Am J Physiol* 1998; *274*: E936-E945.
  84. Rodbell M. Metabolism in isolated fat cells. *J Biol Chem* 1964; *239*: 375-380.
  85. Rebuffe-Scrive M, Eldh J, Hafstrom LO et al. Metabolism of mammary, abdominal, and femoral adipocytes in women before and after menopause. *Metabolism* 1986; *35*: 792-797.
  86. Janke J, Engeli S, Gorzelniak K et al. Mature adipocytes inhibit in vitro differentiation of human preadipocytes via angiotensin type 1 receptor. *Diabetes* 2002; *51*: 1699-1707.
  87. Morimoto C, Kameda K, Tsujita T et al. Relationship between lipolysis induced by various lipolytic agents and hormone-sensitive lipase in rat

- fat cells. *J Lipid Res* 2001; 42: 120-127.
88. Krebs HA. Hoppe-Seyler's *Z. Physiol Chem* 1932; 210: 33-66.
89. Jolly SR, Lombardo YB, Lech JJ et al. Effect of aging and cellularity on lipolysis in isolated mouse fat cells. *J Lipid Res* 1980; 21: 44-52.
90. Hartmann AD, Cohen AL, Richane C et al. Lipolytic response and adenyl cyclase activity of rat adipocytes as related to cell size. *J Lipid Res* 1971; 12: 498-505.
91. Bernt E und Gutmann I. Ethanol determination with alcohol dehydrogenase and NAD. Bergmeyer HU (Hersg.), *Methods of enzymatic analysis*, Verlag Chemie 1974; 1499-1505.
92. Felig P. Amino acid metabolism in man. *Annu Rev Biochem* 1975; 44: 933-955.
93. Cabassi A, Bergamaschi E und Mutti A. Monitoring norepinephrine levels by microdialysis in the white adipose tissue of spontaneously hypertensive rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol Suppl* 1995; 22: S83-S85.
94. Bairras C, Ferrand C und Atgie C. Effect of tyramine, a dietary amine, on glycerol and lactate release by isolated adipocytes from old rats. *J Physiol Biochem* 2003; 59: 161-167.
95. Arner P, Kriegholm E und Engfeldt P. In situ studies of catecholamine-induced lipolysis in human adipose tissue using microdialysis. *J Pharmacol Exp Ther* 1990; 254: 284-288.
96. Arner P, Kriegholm E und Engfeldt P. In vivo interactions between beta-1 and beta-2 adrenoceptors regulate catecholamine tachyphylaxis in human adipose tissue. *J Pharmacol Exp Ther* 1991; 259: 317-322.
97. Galitzky J, Lafontan M, Nordenstrom J et al. Role of vascular alpha-2 adrenoceptors in regulating lipid mobilization from human adipose tissue. *J Clin Invest* 1993; 91: 1997-2000.

- 
98. Boschmann M, Jordan J, Schmidt S et al. Gender-specific response to interstitial angiotensin II in human white adipose tissue. *Horm Metab Res* 2002; *34*: 726-730.
  99. Boschmann M, Krupp G, Luft FC et al. In vivo response to alpha-1 adrenoceptor stimulation in human white adipose tissue. *Obes Res* 2002; *10*: 555-558.
  100. Quisth V, Enoksson S, Blaak E et al. Major differences in noradrenaline action on lipolysis and blood flow rates in skeletal muscle and adipose tissue in vivo. *Diabetologia* 2005; *48*: 946-953.
  101. Millet L, Barbe P, Lafontan M et al. Catecholamine effects on lipolysis and blood flow in human abdominal and femoral adipose tissue. *J Appl Physiol* 1998; *85*: 181-188.
  102. Flechtner-Mors M, Jenkinson CP, Ala A et al. In vivo alpha-1 adrenergic lipolytic activity in subcutaneous adipose tissue of obese subjects. *J Pharmacol Exp Ther* 2002; *301*: 229-233.
  103. Jacob G, Costa F, Vincent S et al. Neurovascular dissociation with paradoxical forearm vasodilation during systemic tyramine administration. *Circulation* 2003; *107*: 2475-2479.
  104. Frisk-Holmberg M und Ostman J. Differential inhibition of lipolysis in human adipose tissue by adrenergic beta receptor blocking agents. *J Pharmacol Exp Ther* 1977; *200*: 598-605.
  105. Hellstrom L, Blaak E und Hagstrom-Toft E. Gender differences in adrenergic regulation of lipid mobilization during exercise. *Int Sports Med* 1996; *17*: 439-447.
  106. Schröder C, Adams F, Boschmann M et al. Phenotypical evidence for a gender difference in cardiac norepinephrine transporter function. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2004; *286*: 851-856.
  107. Townsend RR. The effects of angiotensin II on lipolysis in humans.

---

Metabolism 2001; 50: 468-472.

108. Hennes MM, O'Shaughnessy IM, Kelly TM et al. Insulin-resistant lipolysis in abdominally obese hypertensive individuals. Role of the renin-angiotensin system. Hypertension 1996; 28: 120-126.
109. Ungerstedt U. Microdialysis in normal and injured brain. In: Kinney JM und Tucker HN (Herausgeber). Physiology, Stress, and Malnutrition. New York: Lippincott-Raven Publishers 1997; 361-374.
110. Forssard M, Joukhadar C, Steffen C et al. Paracrine effects of angiotensin-converting enzyme and angiotensin II receptor inhibition on transcapillary glucose transport in humans. Life Sciences 2000; 66: 147-154.
111. Engfeldt P und Cassis L. Subcutaneous adipose tissue blood flow in the abdominal und femoral regions in obese women: effect of fasting. Int J Obes Relat Metab Disord 1992; 16: 875-879.
112. Kucmarski RJ, Fanelli MT und Koch GG. Ultrasonic assessment of body composition in obese adults: overcoming the limitations of the skin fold caliper. Am J Clin Nutr 1987; 45: 717-724.
113. Larsen OA, Lassen NA und Quaade F. Blood flow through human adipose tissue determined with radioactive xenon . Acta Physiol Scand 1966; 66: 337-345.
114. Nielsen SL und Larsen OA. Relationship of subcutaneous adipose tissue blood flow to thickness of subcutaneous tissue and total body fat mass. Scand J Clin Lab Invest 1973; 31: 383-388.
115. Bolinder J, Hagström E, Ungerstedt U et al. Microdialysis of subcutaneous adipose tissue in vivo for continuous glucose monitoring in man. Scand J Clin Lab Invest 1989; 49: 465-474.
116. Lönnroth P, Jansson PA, Fredholm BB et al. Microdialysis of intercellular adenosine concentration in subcutaneous tissue in



- 
- humans. *Am J Physiol* 1989; *256*: E250-E255.
117. Felländer G, Linde B und Bolinder J. Evaluation of the microdialysis ethanol technique for monitoring of subcutaneous adipose tissue blood flow in humans. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1996; *20*: 220-226.
118. Lieber CS. Metabolic aspects of alcoholism. MTP, Lancaster 1977; 1-29.
119. Puddey IB, Zilkens RR, Croft KD et al. Alcohol and endothelial function: a brief review. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2001; *28*: 1020-1024.
120. Strindberg L und Lönnroth P. Validation of an endogeneous reference technique for the calibration of microdialysis catheters. *Scand J Clin Lab Invest* 2000; *60*: 205-211.
121. Orphanidou C, McCargar L, Birmingham CL et al. Accuracy of subcutaneous fat measurement: comparison of skin fold calipers, ultrasound, and computed tomography. *J Am Diet Assoc* 1994; *94*: 855-858.
122. Wofford MR und Hall JE. Pathophysiology and treatment of obesity hypertension. *Curr Pharm Des* 2004; *10*: 3621-3637.
123. Regan CJ, Duckworth R, Fairhurst JA et al. Metabolic effects of low-dose dopamine infusion in normal volunteers. *Clin Sci* 1990; *79*: 605-611.
124. Nyholm D, Nilsson Remahl AI, Dizdar N et al. Duodenal levodopa infusion monotherapy vs oral polypharmacy in advanced Parkinson disease. *Neurology* 2005; *64*: 216-223.
125. Palhagen S, Lorefalt B, Carlsson M et al. Does l-dopa treatment contribute to reduction in body weight in elderly patients with Parkinson's disease? *Acta Neurol Scand* 2005; *111*: 12-20.
126. Gurr MI, Jung RT, Robinson MP et al. Adipose tissue cellularity in man: the relationship between fat cell size and number, the mass and

distribution of body fat and the history of weight gain and loss. *Int J Obes* 1982; 6: 419-436.

127. Knittle JL, Timmers K, Ginsberg F, Feller F et al. The growth of adipose tissue in children and adolescents. Cross sectional and longitudinal studies of adipose cell number and size. *J Clin Invest* 1979; 63: 239-246.

## Danksagung

Mein herzlicher Dank gilt

- Prof. Friedrich C. Luft, der mir das Thema überlassen hat.
- Prof. Jens Jordan für die Aufnahme in seine Arbeitsgruppe, die sehr motivierende und stets engagierte Betreuung sowie die wertvollen Anregungen für diese Arbeit.
- Dr. Michael Boschmann für die freundschaftliche Unterstützung in den vergangenen Jahren, die vielen wissenschaftlichen Diskussionen und Tips zur Gestaltung der Dissertation.
- allen anderen Mitarbeitern des Franz Volhard Centrums für Klinische Forschung für die große Hilfsbereitschaft, besonders Gabriele Franke und Nadine Krüger für die Unterstützung bei der Versuchsdurchführung sowie Dr. Jürgen Janke, Dr. Andreas Birkenfeld, PD Dr. Karsten Heusser, Dr. Stefan Engeli, Dr. Kerstin Gorzelniak und Susanne Wissler für die vielen kleinen und großen Hilfen im Wissenschaftsalltag.
- allen Mitarbeitern der Arbeitsgruppe Physiologie des Energiestoffwechsels am Deutschen Institut für Ernährungsforschung, Potsdam-Rehbrücke, für die schöne Zeit, ganz besonders der Leiterin Prof. Susanne Klaus für ihr Interesse an der Dissertation und die hilfreichen Anmerkungen zum Manuskript und Karin Schaller, Bianca Brauer und Anette Brachmann für die engagierte, zuverlässige Unterstützung bei der Analytik.
- PD Dr. Martina Heer und ihrem Team vom Deutschen Luft- und Raumfahrt-Zentrum, Köln, für die angenehme Arbeitsatmosphäre und die Hilfe während der Versuche am DLR.
- meinen Eltern für ihren Beistand - nicht nur während der Promotionszeit - und meinem Freund Jürgen für sein Verständnis, besonders an den arbeitsreichen Wochenenden. Ich danke ihnen, meinen Großeltern sowie all meinen Freunden und Freundinnen für die große Anteilnahme am Fortgang meiner Arbeit.
- allen Probanden für ihre Zuverlässigkeit und Kooperation.

**Preise:**

Posterpreis 2005 des Verbundes Klinische Pharmakologie in Deutschland e. V. für die Arbeit „Tyramine and adrenergic function in human tissues“

Posterpreis 2004 der Arbeitsgemeinschaft für Angewandte Humanpharmakologie e.V. für die Arbeit "Gender differences in adipose tissue responsiveness to adrenergic stimulation"

**Originalarbeiten:**

Boschmann M, Engeli S, **Adams F**, Franke G, Luft FC, Sharma AM, Jordan J. Influences of AT<sub>1</sub> receptor blockade on tissue metabolism in obese men. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2006; 290: R219-23.

Boschmann M, **Adams F**, Tank J, Schaller K, Boese A, Heer M, Klaus S, Luft FC, Jordan J. Impact of simulated microgravity and caloric restriction on autonomic nervous system function in adipose tissue. *J Gravitat Physiol* 2005. *In press*.

Boschmann M, Engeli S, **Adams F**, Gorzelniak K, Franke G, Klaua S, Kreuzberg U, Luedtke S, Kettritz R, Sharma AM, Luft FC, Jordan J. Adipose tissue metabolism and CD11b expression on monocytes in obese hypertensives. *Hypertension* 2005; 46:130-136.

Birkenfeld AL, Boschmann M, Moro C, **Adams F**, Heusser K, Franke G, Berlan M, Luft FC, Lafontan M, Jordan J. Lipid mobilization with physiological atrial natriuretic peptide concentrations in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:3622-3628.

**Adams F**, Jordan J, Schaller K, Luft FC, Boschmann M. Blood flow in subcutaneous adipose tissue depends on skin-fold thickness. *Horm Metab Res* 2005;37:68-73.

Schröder C, **Adams F**, Boschmann M, Tank J, Haertter S, Diedrich A, Biaggioni I, Luft FC, Jordan J. Phenotypical evidence for a gender difference in cardiac norepinephrine transporter function. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2004; 286:R851-856.

Boschmann M, Steiniger J, Hille U, Tank J, **Adams F**, Sharma AM, Klaus S, Luft FC, Jordan J. Water-induced thermogenesis. *J Clin Endocrinol Metabol* 2003;88: 6015-6019.

Boschmann M, Jordan J, **Adams F**, Christensen NJ, Tank J, Franke G, Stoffels M, Sharma AM, Luft FC, Klaus S. Tissue specific responses to interstitial angiotensin II in humans. *Hypertension* 2003;41:37-41.

Boschmann M, Jordan J, Schmidt S, **Adams F**, Luft FC, Klaus S. Gender-specific response to interstitial angiotensin II in human white adipose tissue. *Horm Metab Res* 2002;34:726-730.

**Adams F**, Wiedmer P, Gorzelniak K, Engeli S, Klaus S, Boschmann M. Age-related changes of Renin-Angiotensin System Genes in white adipose tissue of rats. *Horm Metab Res* 2002;34:716-720.

Boschmann M, **Adams F**, Klaus S. *In situ* metabolic and hemodynamic response to dexfenfluramine in rat white adipose tissue. *Ann Nutr Metab* 2001;45:24-29.

**Vorträge:**

**Adams F**, Boschmann M, Gorzelniak K, Janke J, Franke G, Luft FC, Klaus S, Jordan J. Metabolische Effekte von Dopamin im humanen Fettgewebe. 21. Jahrestagung der Deutschen Adipositas Gesellschaft, Berlin, 6.-8. Oktober 2006.

**Adams F**, Boschmann M, Brauer B, Luft FC, Klaus S, Jordan J. Effects of tyramine on tissue perfusion and metabolism in subcutaneous adipose tissue. First Joint Meeting of the European Federation of Autonomic Societies & American Autonomic Society 2004, Amsterdam, Niederlande, 20.-23. Oktober 2004.

**Adams F**, Boschmann M, Luft FC, Jordan J. Gender differences in adipose tissue responsiveness to adrenergic stimulation. Experimental Biology 2004, Washington DC, USA, 17.-21. April 2004.

**Adams F**, Jordan J, Luft FC, Boschmann M. Stoffwechsel und Durchblutung im Fettgewebe sind abhängig von der Hautfaltendicke. Adipositas Jahrestagung 2003, Deutschland – Österreich – Schweiz, Salzburg, 16.-18. Oktober 2003.

**Adams F**, Jordan J, Boschmann M. Angiotensin II – ein Bindeglied zwischen Adipositas, Hypertonie und Diabetes mellitus? Magdeburger Mikrodialyse Meeting 2003, Magdeburg, 11.-12. April 2003.

**Adams F**, Wiedmer P, Gorzelniak K, Klaus S, Boschmann M. Age-related decrease of angiotensinogen gene expression in white adipose tissue of rats. International Congress on Obesity, Sao Paulo, Brasilien, 24.-29. August 2002.

**Adams F**, Klaus S, Boschmann M. Interaktion von Angiotensin II und NO hinsichtlich des Blutflusses und des Metabolismus im Fettgewebe. 16. Jahrestagung der Deutschen Adipositas Gesellschaft, München, 26.-28. Oktober 2000.

**Poster:**

**Adams F**, Boschmann M, Heer M, Schaller K, Franke G, Gorzelniak K, Janke J, Luft FC, Klaus S, Jordan J. Tyramine and adrenergic function in human tissues. 7. Jahreskongreß für Klinische Pharmakologie, Dresden, 3.-5. November 2005.

**Adams F**, Boschmann M, Luft FC, Jordan J. Gender differences in adipose tissue responsiveness to adrenergic stimulation. 45<sup>th</sup> Spring Meeting of the Deutsche Gesellschaft für Experimentelle und Klinische Pharmakologie und Toxikologie, Mainz, 9.-11. März 2004.

**Adams F**, Boschmann M, Luft FC, Jordan J. Gender differences in adipose tissue responsiveness to adrenergic stimulation. Annual Meeting der Arbeitsgemeinschaft für Angewandte Humanpharmakologie e.V., Berlin, Schering AG, 29. Februar -2. März 2004.

**Adams F**, Boschmann M, Luft FC, Jordan J. Geschlechtsspezifische Unterschiede der Reaktion des Fettgewebes auf adrenerge Stimulation. 5. Jahreskongreß für Klinische Pharmakologie, Rostock-Warnemünde, 30. Oktober- 1. November 2003.

Boschmann M, **Adams F**, Klaus S, Sharma AM, Luft FC, Jordan J. Differences in metabolic response to interstitial angiotensin II in lean and obese men. 3<sup>rd</sup> International Symposium on Obesity and Hypertension Genetics and Molecular Mechanisms, Berlin, 23.- 25. Oktober 2003.

Boschmann M, Steiniger J, Hille U, Tank J, **Adams F**, Klaus S, Luft FC, Jordan J. Thermogene Wirkung von Wasser bei Männern und Frauen. Adipositas Jahrestagung 2003, Deutschland – Österreich – Schweiz, Salzburg, 16.-18. Oktober 2003.

**Adams F**, Jordan J, Luft FC, Boschmann M. Response to interstitial angiotensin II in normal weight and obese men. Bioscience Workshop 2003 der Schering AG, Berlin, 10.-12. September 2003.

Boschmann M, **Adams F**, Klaus S, Sharma AM, Luft FC, Jordan J. Differential response to interstitial angiotensin II in normal weight and obese men. 12th European Congress on Obesity, Helsinki, Finnland, 28. Mai - 01. Juni 2003.

Jordan J, **Adams F**, Klaus S, Tank J, Sharma AM, Luft FC, Boschmann M. Nitric oxide release and tissue metabolism in obesity. 12<sup>th</sup> European Congress on Obesity, Helsinki, Finnland, 28. Mai - 01. Juni 2003.

Boschmann M, **Adams F**, Tank J, Sharma AM, Klaus S, Luft FC, Jordan J. Response to interstitial angiotensin II in normal weight and obese men. 44<sup>th</sup> Spring Meeting of the Deutsche Gesellschaft für Experimentelle und Klinische Pharmakologie und Toxikologie, Mainz, 19.-21. März 2003.

Jordan J, **Adams F**, Klaus S, Tank J, Sharma AM, Luft FC, Boschmann M. Nitric oxide release and tissue metabolism in obesity. 5<sup>th</sup> annual meeting of the Association of Patient-Oriented Research (APOR), Baltimore, MD, USA, 13.-16. März 2003.

Boschmann M, **Adams F**, Tank J, Sharma AM, Klaus S, Luft FC, Jordan J. Differential response to interstitial angiotensin II in non-obese and obese men. 5<sup>th</sup> annual meeting of the Association of Patient-Oriented Research (APOR), Baltimore, MD, USA, 13.-16. März 2003.

**Adams F**, Jordan J, Luft FC, Klaus S, Boschmann M. Metabolische und hämodynamische Wirkung von Angiotensin II in Fettgewebe und Muskel von Adipösen. 18. Jahrestagung der Deutschen Adipositas-Gesellschaft, Dresden, 3.-5. Oktober 2002.

Jordan J, **Adams F**, Klaus S, Sharma AM, Luft FC, Boschmann M. Stickstoffoxid (NO) und Stoffwechsel des Fettgewebes bei Adipositas. 18. Jahrestagung der Deutschen Adipositas-Gesellschaft, Dresden, 3.-5. Oktober 2002.

**Adams F**, Klaus S, Boschmann M. Dexfenfluramine decreases blood flow and inhibits lipolysis in white adipose tissue of rats. 11th European Congress on Obesity, Wien, Österreich, 30. Mai - 02. Juni 2001.

**Adams F**, Klaus S, Boschmann M. Metabolic and hemodynamic response to angiotensin II in rat adipose tissue. 10<sup>th</sup> European Congress on Obesity, Antwerpen, Belgien, 2000.

**Adams F**, Boschmann M, Klaus S. Interaktion von Isoproterenol und Angiotensin II hinsichtlich der Lipolyse isolierter Adipozyten. 15. Jahrestagung der Deutschen Adipositas Gesellschaft, Düsseldorf, 16.-18. September 1999.

### **Eidesstattliche Erklärung**

Ich erkläre hiermit an Eides statt, daß die vorliegende Dissertation von mir selbst und ohne die unzulässige Hilfe Dritter verfaßt wurde, auch in Teilen keine Kopie anderer Arbeiten darstellt und die benutzten Hilfsmittel sowie die Literatur vollständig angegeben sind.

Frauke Adams

Potsdam, den 09.08.2005